

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS
Departamento de Física de Materiales



**EFFECTO DE LA ADSORCIÓN BIOLÓGICA EN LA
RESPUESTA DE RESONADORES
NANOMECÁNICOS.**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Daniel Ramos Vega

Bajo la direcció́n del doctor

Francisco Javier Tamayo de Miguel

Madrid, 2009

• ISBN: 978-84-692-8462-9

©Daniel Ramos Vega, 2009

Tabla de Contenido

Prólogo

1. CONTEXTO HISTÓRICO	2
2. NANOBIOTECNOLOGÍA	3
3. CONTEXTO CIENTÍFICO: SISTEMAS NANOMECÁNICOS	6
4. MOTIVACIÓN	8
5. OBJETIVOS	10
6. ESTRUCTURA	10
REFERENCIAS	12

Capítulo 1

Sensores Nanomecánicos	17
1.1. SENSORES NANOMECÁNICOS	18
1.1.1. Sensores Nanomecánicos: Modo Estático	19
1.1.2. Sensores Nanomecánicos: Modo Dinámico	25
1.2. SISTEMAS DE MEDIDA	28
1.2.1. Lectura Piezorresistiva	28
1.2.2. Lectura Piezoeléctrica	29
1.2.3. Lectura Capacitiva	30
1.2.4. Efecto Túnel	31
1.2.5. Métodos Ópticos	31
1.2.5.1. <i>El Método de la Deflexión de Haz</i>	31
1.2.5.2. <i>Medidas Interferométricas</i>	35
REFERENCIAS	38

Capítulo 2

Teoría General de Sensores Nanomecánicos	43
2.1. INTRODUCCIÓN	44
2.2. ECUACIÓN DE MOVIMIENTO DE EULER-BERNOULLI	44
2.3. TENSOR DEFORMACIÓN	45
2.3.1. Incremento Energético Debido a la Deformación	46
2.3.2. Ecuaciones Diferenciales de Equilibrio	47

2.4. RESOLUCIÓN DE LA ECUACIÓN DE EULER-BERNOULLI	48
2.5. EFECTOS DISIPATIVOS	50
2.6. VIBRACIÓN ASISTIDA POR UNA FUERZA VARIABLE EN EL TIEMPO	51
2.7. OSCILADOR ARMÓNICO AMORTIGUADO FORZADO	52
2.7.1. Movimiento Críticamente Amortiguado	54
2.7.2. Sobrearmortiguamiento	54
2.7.3. Oscilaciones Amortiguadas	54
2.8. RUIDO TERMOMECAÁNICO	56
2.8.1. Ruido en Frecuencia	58
2.9. RESOLUCIÓN DE LA MEDIDA DE FRECUENCIA DE RESONANCIA	61
REFERENCIAS	63

Capítulo 3

Medidas en Líquidos: Excitación Fototérmica	65
3.1. CARGA HIDRODINÁMICA	66
3.2. MÉTODOS DE EXCITACIÓN	70
3.2.1. Excitación Mecano-Acústica	71
3.2.2. Excitación Magnética	73
3.3. EXCITACIÓN FOTOTÉRMICA DE MICROPALANCAS EN LÍQUIDOS	75
3.3.1. Introducción	75
3.3.2. Montaje Experimental	75
3.3.3. Resultados Experimentales	76
3.3.4. Teoría	79
3.3.4.1. <i>Efecto Fototérmico</i>	79
3.3.4.2. <i>Vibración Asistida Fototérmicamente</i>	84
3.3.5. Resultados Teóricos	88
3.3.6. Optimización del Efecto Fototérmico	92
3.3.7. Conclusiones	96
SUBAPÉNCICE A: CÁLCULO DE LA AMPLITUD Y LA FASE DE LA ONDA TÉRMICA REFLEJADA	96
SUBAPÉNDICE B: CÁLCULO DEL AUMENTO DE TEMPERATURA EN LA ZONA ILUMINADA	97
REFERENCIAS	100

Capítulo 4

Medidas en Tiempo Real en Líquidos: Excitación y Auto-Excitación Fototérmica	103
4.1. INTRODUCCIÓN	104
4.2. MEDIDA EN TIEMPO REAL DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS DEL MEDIO: EXCITACIÓN FOTOTÉRMICA	105
4.2.1. Teoría	105
4.2.2. Montaje Experimental	106
4.2.3. Resultados Experimentales: Cambio en la Frecuencia de Resonancia	107
4.2.4. Resultados Experimentales: Cambio en el Factor de Calidad	109
4.3. MEDIDA EN TIEMPO REAL DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS DEL MEDIO: AUTO-EXCITACIÓN FOTOTÉRMICA	110
4.3.1. Teoría	111
4.3.2. Resultados Experimentales	117
REFERENCIAS	122

Capítulo 5

Efecto de las Propiedades Mecánicas de los Adsorbatos en la Frecuencia de Resonancia: Detección <i>ex situ</i> de Patógenos	125
5.1. INTRODUCCIÓN	126
5.2. PRINCIPIO DE ACTUACIÓN	127
5.3. ADSORCIÓN HOMOGÉNEA	128
5.4. ADSORCIÓN NO HOMOGÉNEA SOBRE LA PALANCA	131
5.5. MEDIDAS EXPERIMENTALES: CAMBIO DE FRECUENCIA DE RESONANCIA	134
5.6. MODOS FLEXURALES FRENTE A TORSIONALES	139
5.7. MODO FUNDAMENTAL FRENTE A MODOS SUPERIORES	140
5.8. ORIGEN DE LA RESPUESTA NANOMECAÁNICA	140
5.9. MODELO TEÓRICO: MODOS FLEXURALES	141
5.9.1. El Método de Rayleigh: Modos Flexurales	143
5.10. MODELO TEÓRICO: MODOS TORSIONALES	145
5.10.1. El Método de Rayleigh: Modos Torsionales	147
5.11. RESULTADOS TEÓRICOS	148
5.12. SIMULACIÓN POR ELEMENTOS FINITOS	153
5.13. LÍMITE TERMOMECAÁNICO	156
5.13.1. Ruido en Frecuencia	158
5.13.2. Límite de Detección	159
5.14. APLICACIÓN: CÁLCULO DEL MÓDULO DE YOUNG DE UNA BACTERIA E COLI	162

5.15. RESPUESTA DEL SENSOR: INTERACCIÓN PALANCA-MUESTRA	167
5.16. CONCLUSIONES	174
REFERENCIAS	175

Capítulo 6

Matrices de Resonadores Nanomecánicos para Detección	
Biológica Selectiva: Detección <i>ex situ</i> de Moléculas Biológicas	179
6.1. INTRODUCCIÓN	180
6.2. CARACTERIZACIÓN DE LOS DISPOSITIVOS	181
6.3. MONTAJE EXPERIMENTAL	182
6.4. PROCESO DE FABRICACIÓN DE LOS DISPOSITIVOS	183
6.5. APLICACIÓN: DETECCIÓN DE UNA CAPA AUTO-ENSAMBLADA	184
6.6. DETECCIÓN DE ADN	186
6.6.1. Preparación de las Muestras Biológicas	187
6.6.2. Resultados Experimentales	187
6.6.3. Medidas de Fluorescencia	188
6.6.4. Interpretación de los Resultados	190
6.6.5. Sensibilidad del Resonador ante un Cambio de Masa	191
6.7. CONCLUSIONES	195
REFERENCIAS	196

Apéndice A

Efecto de la Deformación Inducida en la Palanca sobre su	
Frecuencia de Resonancia	199
A.1. INTRODUCCIÓN	200
A.2. TENSOR DEFORMACIÓN	201
A.3. ENERGÍAS DE DEFORMACIÓN	201
A.4. ECUACIÓN DIFERENCIAL DE EQUILIBRIO	202
A.5. RESPUESTA DINÁMICA DE LA PALANCA	204
A.6. RESULTADOS EXPERIMENTALES	204
A.7. DEFORMACIONES EN EL PLANO	205
A.8. FUERZA APLICADA FUERA DEL PLANO DE LA PALANCA	208
A.9. CONCLUSIONES	209
REFERENCIAS	210

Apéndice B

Modos Torsionales de Vibración de una Micropalanca	213
B.1. INTRODUCCIÓN	214
B.2. ECUACIÓN DE MOVIMIENTO	214
B.3. SOLUCIONES DE LA ECUACIÓN DE MOVIMIENTO	216
B.4. EFECTOS DISIPATIVOS	219
REFERENCIAS	222

Apéndice C

Estudio del Origen de la Curvatura de una Micropalanca debido a un Cambio de Temperatura	223
C.1. INTRODUCCIÓN	224
C.2. MODELO TEÓRICO	224
C.3. RESULTADOS EXPERIMENTALES	228
C.4. CONCLUSIONES	231
REFERENCIAS	232

Apéndice D

Modelos de Tensión Superficial	235
D.1. INTRODUCCIÓN	236
D.2. MODELOS DE TENSIÓN SUPERFICIAL: MODELO DE STONEY	236
D.3. MODELOS DE TENSIÓN SUPERFICIAL: CARGA AXIAL	239
D.4. MODELOS DE TENSIÓN SUPERFICIAL: DISTRIBUCIÓN UNIFORME DE MOMENTOS	241
D.5. DEFLEXIONES ANÓMALAS DE LA PALANCA	244
D.6. MEDIDAS DINÁMICAS	246
REFERENCIAS	248

Epílogo

1. CONCLUSIONES GENERALES	250
2. PERSPECTIVAS FUTURAS	252

Publicaciones y Patentes

1.	LISTADO DE PUBLICACIONES	253
2.	PATENTES DERIVADAS DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN	254

PRÓLOGO

En esta primera sección de la presente tesis doctoral, el trabajo de investigación se enmarca dentro de un contexto concreto. Para ello hacemos primero un breve recorrido por los orígenes históricos de la nanotecnología. Posteriormente pasamos a comentar cómo surge un nuevo campo de conocimiento de la sinergia entre la ingeniería de materiales y la biología: la nanobiotecnología. Dentro de este campo encontramos diferentes aportaciones que tratan de resolver problemas concretos que, hasta ahora no ha sido posible abordar, en concreto en el campo de los sensores biológicos (sensibilidad, especificidad, reproducibilidad entre otros). Comparamos los sensores nanomecánicos con diferentes aproximaciones aplicadas al campo de la detección biológica como nuevos marcadores basados en puntos cuánticos o sensores electroquímicos. Continuamos con un repaso al estado actual del campo de los sensores nanomecánicos, finalizando con los objetivos fijados y la estructura de la tesis.

1. CONTEXTO HISTÓRICO

El trabajo de investigación que ha dado lugar a la elaboración de la presente tesis doctoral se encuentra enmarcado dentro del campo habitualmente denominado como “nanotecnología”. El término nanotecnología engloba todas aquellas ciencias aplicadas al control y manipulación de la materia a una escala menor que un micrómetro. Lo más habitual es que tal manipulación se produzca en un rango de entre uno y cien nanómetros. “Nano” es un prefijo griego que indica una medida, no un objeto, de manera que la nanotecnología se caracteriza por ser un campo esencialmente multidisciplinar, y cohesionado exclusivamente por la escala de la materia con la que trabaja.

La nanotecnología promete soluciones nuevas y más eficientes para los problemas ambientales, aplicaciones médicas, nuevas formas de obtención de energía renovable, entre otros temas a los que se enfrenta la sociedad de hoy. Para comprender el potencial de esta tecnología es clave saber que las propiedades físicas y químicas de la materia cambian a escala nanométrica, lo cual se debe no sólo a efectos cuánticos sino a otros muchos que se pueden considerar despreciables cuando se trabaja a escalas mayores (aumenta la relación superficie/volumen). La conductividad eléctrica, el calor, la resistencia, la elasticidad o la reactividad química, entre otras propiedades, se comportan de manera diferente cuando se reduce el tamaño del objeto a escala nanométrica. Sin embargo, es, hasta cierto punto, discutible que la nanotecnología sea una realidad hoy en día. Los progresos actuales pueden calificarse más bien de nanociencia, entendida como el cuerpo de conocimiento que sienta las bases para el futuro desarrollo de una tecnología basada en la manipulación detallada de la materia a escala nanométrica.

El ganador del premio Nobel de Física, Richard Feynman (1918-1988) fue el primero en hacer referencia a las posibilidades de la nanociencia y la nanotecnología en el célebre discurso que dio en el Caltech (Instituto Tecnológico de California) el 29 de diciembre de 1959 titulado “Abajo hay espacio de sobra” (“*There's Plenty Room at the Bottom*”). Otro nombre destacable en los albores de esta nueva disciplina es el de Eric Drexler quien predijo que la nanotecnología podría usarse para solucionar muchos de los problemas de la humanidad, pero también puso un gran énfasis en alertar contra los posibles efectos adversos derivados de esta nueva forma de tecnología. Creador del Foresight Institute y autor de libros como “Máquinas de la Creación” (“*Engines of Creation*”, Ed. Anchor Books, New York, 1986) muchas de sus predicciones iniciales no se cumplieron, y sus ideas parecen hoy en día exageradas en la opinión de otros expertos, como Richard Smalley (1943-2005), premio Nobel de Química por la síntesis de los fulerenos en 1996.

Los avances en la manipulación a escala nanométrica conllevó que la atención de los investigadores se centrara en un primer momento en la fabricación y estudio de materiales semiconductores, pero pronto derivó en la investigación de moléculas tales como los polímeros y en la búsqueda de moléculas orgánicas que se encontrarán en nuestro organismo. No fue sino hasta principios de la década de los cincuenta cuando Watson y Crick propusieron que el ADN era la molécula principal que jugaba un papel clave en la regulación de todos los procesos del organismo. Este descubrimiento supuso un punto de inflexión en cuanto a la concepción de los procesos biológicos mediados por distintos tipos de moléculas. Hoy en día, el estudio en el campo de las ciencias de la

vida se centra en la investigación del mundo molecular ya que en éste se encuentran posiblemente las alteraciones estructurales que provocan las diferentes enfermedades, además el resto de ramas que componen la medicina moderna han salido beneficiadas de este tipo de estudios como la microbiología, la inmunología o la fisiología.

Actualmente, existen alrededor de 40 laboratorios distribuidos a lo largo de todo el mundo que canalizan grandes cantidades de dinero para la investigación en nanotecnología. Unas 300 empresas tienen el término “nano” en su nombre, aunque la comercialización de productos directamente derivados de esta tecnología se encuentra todavía confinada en áreas muy concretas. Algunos gigantes del mundo informático como IBM, Hewlett-Packard (HP), NEC e Intel están invirtiendo miles de millones de dólares al año en el tema. Los gobiernos del llamado Primer Mundo también se han tomado el tema muy en serio, con el claro liderazgo del gobierno estadounidense, que para este año ha destinado 570 millones de dólares a su National Nanotechnology Initiative.

Algunos países en vías de desarrollo ya destinan importantes recursos a la investigación en nanotecnología. La nanomedicina es una de las áreas que más puede contribuir al avance sostenible del Tercer Mundo, proporcionando nuevos métodos de diagnóstico, más rápidos, baratos y fiables para diferentes tipos de enfermedades, mejores sistemas para la administración de fármacos y herramientas para la monitorización en tiempo real de algunos parámetros biológicos.

2. NANOBIOTECNOLOGÍA

La nanobiotecnología es un término recientemente acuñado que describe la convergencia de dos disciplinas que, si bien han coexistido durante las últimas décadas, no ha sido sino hasta ahora cuando han comenzado a dar resultados conjuntos: la ingeniería de materiales y la biología molecular. El avance que han experimentado en los últimos años las técnicas de litografía ha permitido a los ingenieros de materiales reducir las dimensiones de las estructuras fabricadas. Un claro reflejo de esta tendencia es la mayor capacidad de empaquetamiento de los microprocesadores y capacidad de almacenamiento, llegando a dimensiones nanométricas. De forma paralela, los biólogos moleculares operan en el dominio de dimensiones moleculares o celulares, que varían entre decenas de nanómetros (como, por ejemplo, moléculas de ADN o virus) hasta varias micras (células o bacterias) [1]. Por tanto, es de esperar que la combinación de estas dos disciplinas dará como resultado la aparición de una nueva clase que dispositivos multifuncionales y sistemas para análisis biológicos y químicos caracterizados por su mayor sensibilidad y especificidad que los obtenidos mediante la aplicación de métodos tradicionales [2].

La nanobiotecnología está todavía en fases tempranas de desarrollo, sin embargo, se desarrolla de forma paralela en múltiples direcciones evolucionando de manera muy rápida. Se han establecido centros dedicados a la nanotecnología a lo largo de todo el mundo y el número de patentes y artículos dedicados en esta área está aumentando constantemente. La nanotecnología puede entenderse como una caja que se está llenando rápidamente de nanoherramientas, muchas de las cuales podrían no tener una aplicación viable y terminarán como un mero ejercicio de diseño por parte de la tecnología en sí misma. La gran convulsión que se está viviendo en el campo de los

sensores, por ejemplo, puede ser vista en un primer momento como beneficiosa, sin embargo, las técnicas necesarias para la fabricación del sensor pueden ser muy complicadas y caras, además, la sensibilidad puede no ser superior a los métodos existentes basados en la aproximación micrométrica, en oposición a las posturas nanométricas.

Sin embargo, el empleo de estas técnicas tiene beneficios claros. La nanobiotecnología es por definición interdisciplinar, une los esfuerzos llevados a cabo en las ciencias de la vida y por los ingenieros de materiales. Puede ser, por tanto, un caldo de cultivo para futuras ideas surgidas de esta sinergia que, de otro modo, no podrían ver la luz. Tal es el caso, por ejemplo, de la transformación de la energía química en energía mecánica vía los motores moleculares. Todo esto se traduce en una apuesta importante por la nanobiotecnología y las empresas nanobiotecnológicas, que suponen ya cerca del 50% del capital riesgo invertido en la nanotecnología [3].

Las innovaciones en la detección molecular tienen como objetivo principal lograr un reconocimiento molecular altamente multiplexado, es decir, que permita el análisis en paralelo de varias muestras. Para ello debemos hacer uso de matrices reconfigurables, dejando a un lado, por tanto, los sistemas tradicionales con un solo ligando inmovilizado sobre una superficie sólida [4]. Por otro lado, resulta interesante el desarrollo de nuevos métodos para registrar y cuantificar un enlace químico a través de medidas electroquímicas, electrónicas o mecánicas, preferiblemente sin la utilización de marcadores moleculares que pueden dificultar la interpretación de los resultados [5]. Las herramientas nanotecnológicas tales como nanocanales, nanoporos, puntos cuánticos, nanotubos, nanohilos, nanocapacitores o sensores nanomecánicos podrían ser la respuesta a estos objetivos tan ambiciosos [6].

El marcaje fluorescente de diferentes tipos de moléculas (por ejemplo diferentes fragmentos de ADN o proteínas) en una muestra y el posterior ensayo de reconocimiento molecular específico en un fluido proporciona hasta el momento el método más extendido para monitorizar las reacciones de reconocimiento molecular en matrices planas y fijas, método que se conoce como chips de ADN. Estos marcadores han evolucionado a lo largo del tiempo desde moléculas orgánicas fluorescentes hasta técnicas recientemente desarrolladas basadas entre otros dispositivos en puntos cuánticos [7], códigos de barras metálicos [8] o cristalinos [9]. Las moléculas marcadas, por ejemplo, con puntos cuánticos presentan ciertas ventajas significativas sobre las moléculas orgánicas fluorescentes [10, 11]. El espectro de absorción de los puntos cuánticos es muy ancho, extendiéndose desde el ultravioleta hasta una frecuencia de corte en el espectro visible. La posición de esta frecuencia de corte está determinada por el tamaño del punto (mayores tamaños implican mayores frecuencias de corte) y por su composición. La emisión sin embargo está confinada en una banda muy estrecha (típicamente 20 – 40nm) centrada en la longitud de onda característica del tamaño de la partícula. Los puntos cuánticos se pueden excitar con determinadas longitudes de onda para producir múltiples colores. La diferenciación en el color de la emisión, la intensidad y el ancho espectral conduce a miles de posibles formas de marcajes únicos. Otras perspectivas en la diferenciación del marcaje es la variación de la forma de las nanopartículas [12, 13]. Basándose en esta técnica se podría desarrollar un ensayo multiplexado donde los marcadores basados en nanopartículas estuvieran fabricadas todas en el mismo material pero con diferentes formas con el fin de lograr una única señal óptica. Alternativamente, mediante el uso de micropartículas compuestas de diferentes materiales con puntos cuánticos embebidos en su interior [7], es posible

generar un millón de marcas individuales. Estas marcas se pueden leer ópticamente, y se ha demostrado su capacidad de codificación en diferentes esquemas de detección electroquímica [12] y en el marcaje de células y macromoléculas [14, 15]. Sin embargo, todavía se está trabajando en solucionar el problema de la toxicidad y la adsorción en células vivas.

El uso de los nanotubos de carbono ha mejorado la sensibilidad de las medidas de reconocimiento del ADN. Estos dispositivos se basan normalmente en la utilización de matrices de nanotubos para la construcción de electrodos en el rango nanométrico [16]. La parte superior de los nanotubos se funcionaliza con una hebra de cadena sencilla de ADN. Cuando la cadena complementaria se hibrida con la funcionalizada en el extremo del nanotubo de carbono, que es un buen conductor de la electricidad, cambia su resistividad. El proceso se detecta mediante el uso de métodos electroquímicos basados en la oxidación de la guanina. Esta técnica de detección ha demostrado una sensibilidad muy alta, en el rango de unos cuantos attomoles. Sin embargo, estos dispositivos presentan una baja relación señal–ruido debido, en parte, a la reducción del área sensora del electrodo, del orden del diámetro del nanotubo. Para conseguir un nivel apreciable de la señal, en cada electrodo se tiene que depositar un alto número de nanotubos [17].

Los nanotubos de carbono se utilizan también como conductos a través de los cuales se hacen pasar diferentes tipos de moléculas [18]. En este sentido, se ha desarrollado un contador Coulter que contiene una membrana con un único canal formado por un nanotubo formado por múltiples capas de carbono. La membrana fue preparada de una sección de epoxy conteniendo el canal montado sobre una estructura de polidimetilsiloxano (PDMS) que permite la evaluación del tamaño y carga superficial de nanopartículas de poliestireno terminadas en grupos carboxilo. Este tipo de medidas se ha aplicado con éxito a partículas con tamaños comprendidos entre los 60 y los 100nm. Los nanotubos de carbono también se han utilizado como puntas para microscopios de fuerzas atómicas (AFM) para aumentar la resolución de imágenes de ADN sobre una superficie [19].

La mayoría de las técnicas de reconocimiento molecular se basan en la detección de eventos de uniones que se detectan mediante técnicas ópticas, electroquímicas o magnéticas [20-23] y requieren un marcaje previo de las moléculas implicadas con diferentes tipos de moléculas o las técnicas basadas en puntos cuánticos explicadas anteriormente. Una alternativa altamente deseable a esta estrategia sería eliminar el proceso previo del marcaje de la muestra y, por tanto, estaría basado en el cambio de una propiedad inherente al analito o a los agregados moleculares formados por la unión. La eliminación del proceso de marcaje presenta ciertas ventajas: por un lado supone un ahorro en tiempo y dinero de cada ensayo, además se eliminan las posibles interferencias en el reconocimiento molecular, lo que revierte en la mejora de la relación señal-ruido. Actualmente este problema se aborda utilizando tres estrategias diferentes: sensores basados en medidas eléctricas como las presentadas anteriormente con nanotubos y nanocapacitores, membranas perforadas con nanoporos y sensores nanomecánicos.

En la literatura se encuentran ejemplos del desarrollo de nanocapacitores con una separación entre los electrodos de 50nm fabricados mediante litografía [23]. La cadena sencilla de ADN se inmoviliza en la superficie del electrodo. La cadena doble formada por la unión con la complementaria se detecta por medio de medidas del

cambio de capacidad. Una mejora evidente sería la fabricación de matrices de capacitores para la medida simultánea de varios ácidos nucleicos en una muestra.

Los dispositivos basados en nanoporos se han diseñado para la medida de ensayos de inmunología en flujo. El principio sobre el que se sustentan este tipo de medidas estaría basado en el uso de un contador Coulter para determinar el tamaño de la partícula basándose en la firma electrónica que deja la misma a su paso por un poro fabricado en PDMS. Los anticuerpos unidos a antígenos inmovilizados sobre la superficie de la partícula contribuyen a cambiar el diámetro del conjunto y, por tanto, son susceptibles de ser detectados por estos dispositivos [24-26].

Se ha propuesto el uso de dispositivos basados en el transporte electroforético de fragmentos secuenciados de ADN a través de un solo poro fabricado en una membrana de nitrato de silicio [27], o través de poros en bicapas lipídicas [28]. Las medidas de los diámetros de los poros en ambos casos son menores de 10nm. Las medidas de la corriente a través del poro proporcionarían firmas únicas para cada molécula que podrían conducir a medidas directas de la secuencia del ADN. Este tipo de dispositivos se pueden utilizar para estrechar y estirar la molécula de ADN con el fin de simplificar su secuenciación. Las estimaciones en la tasa de secuenciación que se podrían alcanzar utilizando nanoporos varían entre las expectativas más conservadoras de 1000 bases por segundo a las más optimistas de 10000 bases por segundo, que excede ampliamente la velocidad actual de aproximadamente 30000 bases al día utilizando secuenciadores convencionales. Sin embargo, todavía queda por refinar la técnica para poder distinguir bases individuales y no secuencias específicas como hasta ahora. Sin embargo, el uso de nanocanales está todavía en fases muy tempranas de desarrollo [29].

Por último, otro método utilizado actualmente en la detección biológica libre de marcajes es la medida de las deflexiones nanométricas de micropalancas, constituyendo el estudio del comportamiento de estos dispositivos el tema central de la presente tesis doctoral. La fabricación de estas micropalancas se realiza utilizando técnicas de litografía desarrolladas por la industria microelectrónica en diversos materiales, siendo los más habituales el silicio o el nitrato de silicio [5,30]. En la literatura existen ejemplos de cómo este método se ha utilizado con éxito en ensayos de reconocimiento molecular [24], procesos de hibridación de ADN [5, 6] y la unión de proteínas [30]. En los ejemplos anteriores se ha utilizado la deflexión estática de la palanca como parámetro indicador del éxito del ensayo. Por ejemplo, en el caso de la hibridación del ADN, la cadena sencilla se inmoviliza en la superficie de la palanca. Posteriormente se expone a la cadena complementaria. La palanca se deflexa una cierta cantidad que, en primera aproximación, se puede suponer proporcional a la cantidad de ADN hibridado. Esta deflexión se puede medir de forma muy precisa mediante métodos ópticos. Este método de medida es una demostración de la sofisticación alcanzada en las técnicas de microfabricación y los métodos de ensayo clínico.

3. CONTEXTO CIENTÍFICO: SISTEMAS NANOMECAÑICOS

La invención del microscopio de efecto túnel o STM (“Scanning Tunneling Microscopy”) en 1982 por parte de Gerard Binnig y Heinrich Rohrer [32] supone un hito en el, por aquel entonces, incipiente campo de la Nanotecnología. Sus autores recibieron el premio Nobel por este descubrimiento en 1986. En el STM se establece una corriente túnel entre una punta metálica situada al final de una micropalanca y la

muestra. Esta corriente túnel se mantiene constante durante la adquisición de imágenes con un valor aproximado de 1nA. El principio físico sobre el que se fundamenta el microscopio es la dependencia exponencial de la intensidad de corriente túnel establecida entre la punta y la muestra con la distancia entre ambas. De este modo, manteniendo constante la corriente, desplazando para ello la punta verticalmente, podemos reconstruir la topografía de la muestra. Utilizando esta técnica se ha llegado a obtener resolución atómica, siendo la primera imagen obtenida la de la reconstrucción 7x7 del silicio (111) [33]. Además de permitir la visualización directa de los “átomos” sobre la superficie, esta técnica permite la manipulación de dichos átomos, tal y como se demostró inicialmente con la formación de las letras que componen el emblema de IBM, empresa donde se desarrollaron los microscopios [34], o el desarrollo de lo que se conoce en la literatura como corrales cuánticos [35] que no son sino átomos colocados de tal forma que forman una estructura cerrada. Nótese que se ha entrecomillado la palabra átomos cuando hablamos de la visualización directa y es que se ha demostrado que lo que realmente se determina utilizando el STM es la función de onda de los electrones.

La propia naturaleza del microscopio de efecto túnel hace que su uso quede restringido únicamente a muestras conductoras o semiconductoras. Esto supone, obviamente, ciertas limitaciones a la aplicación de esta técnica, lo que la ha relegado a un papel adscrito a estudios de carácter fundamental. Del afán por extender las capacidades de esta técnica a todo tipo de muestras surge el desarrollo del microscopio de fuerzas atómicas o AFM (“Atomic Force Microscope”) en 1986 por parte de Binnig, Quate y Gerber [36]. El principio sobre el que se basa el funcionamiento del AFM es la detección de la fuerza de interacción entre una punta y la superficie de la muestra. La punta está situada de nuevo en el extremo de una micropalanca flexible, cuya deflexión puede suponerse proporcional a la fuerza existente entre la punta y la muestra. Esta deflexión juega en este caso el mismo papel de magnitud característica que en el STM estaba reservado a la corriente túnel. La deflexión de la micropalanca, o lo que es lo mismo, la fuerza entre la punta y la muestra, se puede mantener constante variando la posición vertical de la punta que se desplaza sobre la superficie, lo que puede traducirse en un mapa que muestra la topografía de la superficie.

La capacidad del AFM de obtener imágenes de alta resolución en diferentes tipos de condiciones, por ejemplo, temperatura ambiente y presión atmosférica, lo convierte en un instrumento muy útil para el estudio de diferentes tipos de superficies. En la mayoría de los AFM la deflexión de la micropalanca se detecta mediante el reflejo en su superficie de un haz láser que se recoge mediante un detector óptico sensible a la posición. En el campo de la microscopía, las deflexiones causadas por cargas sobre la palanca que difieren de los cambios en altura de la muestra pueden llegar a ser consideradas como fuentes parásitas de ruido que empobrecen la resolución de las imágenes tomadas. Estas fuerzas pueden ser de tipo van der Waals entre la punta y la muestra, fuerzas de capilaridad, interacciones electrostáticas, etc. Además, las fuerzas de interacción se pueden acoplar a través de la fricción para producir cargas laterales que doblen la palanca, lo que puede inducir a errores en la medida de alturas. Pese a que en la literatura existen ejemplos anteriores del efecto sobre la deflexión de la palanca que tiene la presión de radiación y la tensión diferencial debida al cambio de temperatura [37] el primer artículo en el que se plantea la utilización de la micropalanca como sensor data de 1994 [38]. En este artículo a cargo de Thomas Thundat y sus colaboradores en el laboratorio de Oak Ridge (Tennessee, Estados Unidos) se mide las deflexiones que sufre una micropalanca inducidas por un cambio en la temperatura del

medio que la rodea. El aumento de temperatura origina un desplazamiento de la posición de equilibrio de la micropalanca. Los autores sostienen en este artículo que la deflexión térmica es parcialmente debida al efecto bimetalico (las micropalancas suelen estar recubiertas de un metal que mejora notablemente la reflectividad) y que se alcanza un estado estacionario al cabo de un determinado periodo de tiempo. Una vez alcanzado el equilibrio térmico, los autores expusieron la palanca a vapores de mercurio que se adhieren a la superficie de la misma, lo que también originó una deflexión medible de la palanca. Con este experimento se sentaron las bases de lo que posteriormente se convertiría en toda una familia de sensores químicos.

Apenas seis años después, en el año 2000, un artículo aparecido en la revista Science [5] sienta las bases de la detección biológica utilizando micropalancas. En dicho artículo los autores detectan la hibridación de ADN. Para ello inmovilizan una cadena sencilla en una cara de la palanca, al introducirse la cadena complementaria y producirse la hibridación hay un exceso de tensión superficial generada en esa superficie. Los autores señalan que el origen de la deflexión de la micropalanca se basa precisamente en esa diferencia de tensión superficial generada entre las dos caras de la palanca.

4. MOTIVACIÓN

Al comienzo del trabajo de investigación que ha dado lugar a la presente tesis doctoral, año 2004, el campo de los sensores nanomecánicos se encuentra muy polarizado: las micropalancas vistas desde el punto de vista estático, modo que hemos descrito anteriormente, o vistas como resonadores mecánicos.

Entendemos por sensores nanomecánicos aquellos dispositivos mecánicos cuya respuesta se encuentra en el rango de los nanómetros. Es por esto que pese a que las palancas (u otro tipo de geometría, por ejemplo, puentes) sean relativamente grandes, incluso del orden de centenares de micras, podamos seguir hablando de nanomecánica, ya que las deflexiones inducidas por los cambios en la tensión superficial, o la amplitud de las oscilaciones cuando vibran a su frecuencia de resonancia, es del orden de unos cuantos nanómetros.

Mientras que existen en la literatura numerosos ejemplos de detección biológica, anteriores al año 2004, basados en la deflexión estática de la palanca, apenas hay estudios basados en la respuesta dinámica de la misma. El primer estudio que se publica en este campo data del año 2000, por parte del grupo de H. Craighead en la Universidad de Cornell [39]. Este grupo de investigación basó la detección de bacterias *Escherichia coli* en un estudio previo (1999) del comportamiento de la frecuencia de resonancia de diferentes dispositivos nanomecánicos [40], donde se propone el uso de estos dispositivos como sensores. En este trabajo se relaciona el desplazamiento en la frecuencia de resonancia con el número de bacterias que hay sobre la superficie de la palanca. De este modo se considera que el resonador se comporta como un oscilador armónico simple, cuya frecuencia de resonancia depende tanto de la constante elástica como de la masa. Por tanto, al aumentar la masa añadida sobre la micropalanca con el número de bacterias la frecuencia de resonancia disminuye.

Este tipo de esquemas de detección biológica se centró durante los años posteriores a la publicación de este trabajo en la detección de agentes patógenos tanto

por su importancia en diferentes tipos de aplicaciones, tales como la industria alimentaria o la farmacéutica, como por su tamaño. Y es que la baja sensibilidad que exhiben estos dispositivos cuando se utilizan en aire hace necesario que el objeto a detectar sea razonablemente grande. De este modo en el año 2004 aparece un trabajo en esta dirección, por un lado la detección de una sola partícula vírica, perteneciente al virus de la varicela [41]. En 2005 la detección de patógenos, en concreto bacterias *Escherichia coli*, se ve completada con la aparición de dos artículos [42, 43] en los que los autores detectan el crecimiento en tiempo real de dichas bacterias.

Pero a lo largo de estos años también se han realizado esfuerzos dirigidos a la detección ya no de patógenos, sino de biomoléculas utilizando resonadores nanomecánicos. Quizá el trabajo más representativo de este periodo sea un artículo de 2005 en el que mediante la medida del cambio en la frecuencia de resonancia de una micropalanca los autores son capaces de enumerar cadenas de ADN que se van adhiriendo a la palanca [44]. Más recientemente (Marzo de 2008) este tipo de resonadores han sido utilizados para la detección de proteínas o, más concretamente, priones [45].

Pero sin duda es en el campo de la detección de masa donde los resonadores nanomecánicos han alcanzado las más altas cotas de sensibilidad. Se trata de un campo desarrollado de forma paralela a la detección biológica, pero pese a que el principio de operación es el mismo que en los sensores biológicos, medida del cambio en la frecuencia de resonancia de un dispositivo, el objetivo de la medida es intrínsecamente diferente. En este caso no se busca la especificidad en la medida, o compatibilidad con procesos biológicos, lo que deja cierta libertad a la hora de elegir el medio en el que realizamos la medida, el objetivo es alcanzar el límite intrínseco de sensibilidad con la esperanza de poder aplicarlo posteriormente. A lo largo de la presente tesis doctoral veremos cómo el medio afecta de manera notable a la sensibilidad de las medidas. Se explicará con detalle cómo la energía que pierde el resonador por su interacción con el medio hace que la resolución en la medida de la frecuencia de resonancia se vea muy disminuida. Esto resulta un problema grave cuando queremos aplicar los resonadores a medidas de índole biológica ya que gran parte de las reacciones biológicas o biomoleculares se llevan a cabo en un medio fisiológico, es decir, de naturaleza líquida. Es por esto que las medidas que requieren mucha resolución se llevan a cabo en vacío, donde se reduce la pérdida de energía debida al rozamiento de la palanca con el medio. Así, utilizando micropuentes [46] (micropalancas con ambos extremos fijos) se ha llegado a una resolución en las medidas de masa de attogramos [47]. Para alcanzar esta resolución los autores recurrieron a resonadores de muy alta frecuencia (1GHz) y a un circuito de lectura que opera en el rango de las radiofrecuencias. Estos dos estudios fijan la máxima resolución obtenida mediante el uso de resonadores basados en dispositivos micro-electro-mecánicos, en concreto fabricados en silicio. A partir de la publicación de estos dos estudios (año 2004) una tendencia creciente en el campo de la detección de masas es trabajar con dispositivos basados en nanohilos de silicio [48] o nanotubos de carbono [49]. Precisamente utilizando nanotubos de carbono se ha logrado alcanzar recientemente (año 2008) una resolución de unos pocos zeptogramos (10^{-21} g) midiendo el cambio en la frecuencia de resonancia a una temperatura de 5K [50-52], y se espera poder alcanzar una resolución todavía mayor midiendo por debajo de dicha temperatura.

5. OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo de investigación es el desarrollo de un sensor basado en resonadores nanomecánicos. Para ello nos hemos basado en la experiencia previa del grupo de investigación en sensores nanomecánicos operados en modo estático y en microscopía de fuerzas atómicas. Este objetivo significa sentar las bases teóricas y experimentales para obtener la máxima sensibilidad y reproducibilidad en las medidas de adsorción biológica. Por sensor en este trabajo entendemos el conjunto formado por el sistema de lectura óptico de la frecuencia de resonancia de una micropalanca y la propia micropalanca que actúa como resonador. Una vez diseñado y construido el sensor, los esfuerzos deben centrarse en la interpretación de los resultados.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo se pueden dividir en dos grupos: por un lado se encuentran las medidas realizadas en un medio líquido, emulando las condiciones fisiológicas que entran en juego en los procesos biológicos; y por otro lado, las medidas *ex situ*, en aire antes y después de haber depositado el agente biológico que queremos detectar. Ambos estudios presentan además dos frentes de batalla que han sido abordados en la presente tesis doctoral. Por un lado están las propias medidas experimentales y por otro lado está el desarrollo de un modelo teórico capaz de interpretar correctamente la señal obtenida.

En cuanto a las medidas realizadas en líquidos se ha fijado como objetivo el desarrollo de una técnica eficaz de excitación capaz de aumentar la baja relación señal ruido que presentan los resonadores en dichas condiciones externas. Para este propósito se ha desarrollado e implementado la excitación fototérmica que permite la excitación selectiva de los diferentes modos de vibración de la micropalanca. Esta técnica está acompañada de un modelo teórico que permite explicar el funcionamiento de la técnica proporcionando las claves para optimizar los resultados obtenidos. Mediante la combinación de esta el uso de esta técnica y un sistema de realimentación desarrollado en el seno del grupo de investigación se aumenta la resolución de la medida de la frecuencia de resonancia, siendo capaces de utilizar la micropalanca para monitorizar en tiempo real el cambio en la densidad del medio.

En cuanto a las medidas realizadas *ex situ* nos centramos en explicar cómo la adsorción de una capa biológica cambia la frecuencia de resonancia. Hasta ahora, tal y como se desprende de la sección anterior, los cambios en la frecuencia se atribuían al cambio en la masa de la micropalanca. Sin embargo, esta suposición es incapaz de explicar los resultados experimentales obtenidos en la detección de agentes patógenos (bacterias), lo que nos lleva al desarrollo de un modelo teórico que explica cómo la adsorción de una capa sobre la micropalanca modifica las propiedades de ésta cambiando la frecuencia de resonancia. Estos cambios pueden ser positivos o negativos, no únicamente negativos como los resultados recogidos en la literatura [39-52]. Las conclusiones que se desprenden de este estudio sientan las bases a futuros desarrollos de sensores capaces de medir propiedades de capas biológicas diferentes de la masa.

6. ESTRUCTURA

La tesis está dividida en seis capítulos que se pueden separar en tres grupos bien diferenciados: una introducción general, medidas en tiempo real de la resonancia de la

micropalanca en líquidos y detección *ex situ* de agentes patógenos y moléculas biológicas. Además contiene cuatro apéndices que abarcan temas diversos, desde la modelización de los modos torsionales de vibración hasta diferentes modelos teóricos para explicar la deflexión estática de la micropalanca.

En el Capítulo 1 se recoge una breve introducción general a los sensores nanomecánicos donde se habla de los dos modos de detección, el modo estático y el modo dinámico. Además se hace un recorrido por las diferentes técnicas que se utilizan para la medida de estos dispositivos, con especial énfasis en los métodos de lectura ópticos desarrollados a lo largo del periodo de investigación que ha dado lugar a la presente tesis doctoral.

El Capítulo 2 hace un recorrido por el modelo de Euler–Bernouilli en el que se enmarca toda la teoría que se va a utilizar en los desarrollos posteriores. El capítulo parte de una deformación arbitraria en la palanca, a partir de la cual se deduce la ecuación de movimiento y el ruido termomecánico.

Con el Capítulo 3 entramos en el campo de las medidas de la frecuencia de resonancia en líquidos y los métodos de excitación. El capítulo comienza con unas consideraciones teóricas acerca del efecto que tiene el medio sobre la frecuencia de resonancia de la palanca, que se ven refrendadas por medidas experimentales de las diferencias observadas en el espectro de vibración de la misma palanca en aire y en agua. Posteriormente se describe la excitación fototérmica desde el punto de vista teórico y práctico, con algunas consideraciones acerca de la optimización del efecto.

En el Capítulo 4 hacemos uso de la excitación fototérmica para implementar un sistema de realimentación de la señal proveniente de la oscilación de la palanca. Con este sistema reducimos el ruido inherente a la oscilación y somos capaces de detectar una concentración del 1% en masa de glicerol en agua pura.

El Capítulo 5 está dedicado a la detección *ex situ* de patógenos. Utilizamos el cambio en la frecuencia de resonancia de la micropalanca para detectar bacterias *E. coli*. A partir de medidas en aire antes y después de la inmersión de la palanca en el líquido que contiene las bacterias nos damos cuenta de que la descripción que se utiliza de forma habitual en la literatura es incompleta, lo que nos impulsa a desarrollar un modelo teórico propio que logre explicar por completo los resultados experimentales. Para comprobar este modelo hacemos una deposición controlada de bacterias en diferentes zonas de la palanca, midiendo el cambio en la frecuencia de resonancia. Si la deposición se realiza en el extremo libre la resonancia se desplaza hacia frecuencias más bajas, tal y como se describe en la literatura; pero si depositamos la masa en el extremo fijo la frecuencia de resonancia aumenta, tal y como predice nuestro modelo.

En el Capítulo 6 vamos un paso más allá en la comprensión de la respuesta del resonador. Reduciendo las dimensiones del mismo somos capaces de detectar cambios en la frecuencia debidos a la adsorción de una capa de moléculas biológicas. Asumiendo la validez del modelo teórico desarrollado en el capítulo anterior, diseñamos unos resonadores con zonas sensoras donde se inmovilizan las moléculas, en concreto el extremo libre y el fijo, viendo cómo varía la frecuencia en función de la zona donde se inmovilizan. Una vez hemos comprobado el funcionamiento con una molécula modelo bien conocida y estudiada en la literatura, mercaptohexanol, utilizamos estos

resonadores para detectar la hibridación de cadenas complementarias de ADN, siendo capaces de distinguir la adsorción específica de la no – específica.

En el Apéndice A tratamos de ver el efecto que tiene una deformación inducida en la palanca sobre la frecuencia de resonancia. Podemos inducir la deformación en diferentes ejes variando la orientación de un campo magnético externo sobre la palanca, que ha sido recubierta previamente con un material magnetostrictivo.

El Apéndice B hace una deducción de la ecuación de movimiento utilizada para la descripción de los modos torsionales de vibración de una palanca cuya sección es rectangular. En este apéndice vemos las posibles ventajas que implica el uso de estos modos de vibración frente a los modos flexurales que se utilizan normalmente, ya que presentan frecuencias de resonancia y factores de calidad más altos.

En el Apéndice C recogemos el estudio realizado sobre la deformación estática de la palanca debida a un cambio en la temperatura del medio que la rodea. En este apéndice se establecen los límites de validez de la aproximación lineal que se utiliza para la calibración de la deflexión de las micropalancas.

El Apéndice D hace un recorrido a través de diferentes modelos que tratan de explicar la deformación estática de la micropalanca ante un estímulo externo. En la literatura el método más empleado para calcular el cambio de tensión superficial que sufre la palanca cuando una capa biológica se inmoviliza sobre una de las superficies es el modelo de Stoney. No obstante muchos estudios cuestionan la validez universal de este modelo y proponen diferentes alternativas. En este apéndice se recogen tres modelos diferentes.

Por último, en el Epílogo se recogen las conclusiones generales del trabajo de investigación y las posibles líneas que quedan abiertas a raíz de los resultados obtenidos.

REFERENCIAS

1. G. M. Whitesides “The *right* size in nanobiotechnology” Nat. Biotechnol. **18**, 760 (2003).
2. C. M. Niemeyer, C. A. Mirkin “Nanobiotechnology: Concepts, Applications and Perspectives”, Wiley (2004).
3. R. Paull, J. Wolfe, P. Habert, M. Sinkula “Investing in nanotechnology” Nat. Biotechnol., **21**, 1144 (2003).
4. D. R. Walt ”Techview: molecular biology. Bead-based fiber optic arrays” Science, **287**, 451 (2000).
5. R. McKendry, J. Zhang, Y. Arntz, T. Strunz, M. Hegner, H. P. Lang, M. K. Baller, U. Certa, E. Meyer, H.-J. Güntherodt, C. Gerber “Multiple label-free biodetection and quantitative DNA-binding assays on a nanomechanical cantilever array” Proc. Natl. Acad. Sci. **99**, 9783 (2002).

6. J. Fritz, M. K. Baller, H. P. Lang, H. Rothuizen, P. Vettiger, E. Meyer, H.-J. Güntherodt, C. Gerber, J. K. Gimzewski “Translating Biomolecular Recognition into Nanomechanics” *Science*, **288**, 316 (2000).
7. X. Gao, W. C. W. Chan, S. Nie “Quantum-dot nanocrystals for ultrasensitive biological labeling and multicolor optical encoding” *J. Biomed. Opt.* **7**, 532 (2002).
8. S. R. Nicewarner-Peña, R. G. Freeman, B. D. Reiss, L. He, D. J. Peña, I. D. Walton, R. Cromer, C. D. Keating, M. J. Natan “Submicrometer Metallic Barcodes” *Science*, **294**, 137 (2001).
9. M. J. Dejneka, A. Streltsov, S. Pal, A. G. Frutos, C. L. Powell, K. Yost, P. K. Yuen, U. Müller, J. Lahiri “Rare earth-doped glass microbarcodes” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **100**, 389 (2003).
10. M. Bruchez, M. Moronne, P. Gin, S. Weiss, A. P. Alivisatos “Semiconductor Nanocrystals as Fluorescent Biological Labels” *Science*, **281**, 2013 (1998).
11. W. C. Chang, et al “Luminiscent quantum dots for multiplexed biological detection and imaging” *Curr. Opin. Biotechnol.* **13**, 40 (2002).
12. X. Wu, H. Liu, J. Liu, K. N. Haley, J. A. Treadway, J. P. Larson, N. Ge, F. Peale, M. P. Bruchez “Immunofluorescent labeling of cancer marker Her2 and other cellular targets with semiconductor quantum dots” *Nat. Biotechnol.* **21**, 46 (2003).
13. R. Jin, Y. W. Cao, C. A. Mirkin, K. L. Kelly, G. C. Schatz, J. G. Zheng “Photoinduced Conversion of Silver Nanospheres to Nanoprisms” *Science*, **294**, 1901 (2001).
14. J. Wang, G. Liu, A. Merkoçi “Electrochemical Coding Technology for Simultaneous Detection of Multiple DNA Targets” *J. Am. Chem. Soc.* **125**, 3214 (2003).
15. J. K. Jaiswal, H. Mattoussi, J. M. Mauro, S. M. Simon “Long-term multiple color imaging of live cells using quantum dot bioconjugates” *Nat. Biotechnol.* **21**, 47 (2003).
16. S. Chen, S. Webster, R. Czerw, J. Xu, D. L. Carroll “Morphology Effects on the Optical Properties of Silver Nanoparticles” *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **4**, 254 (2004).
17. J. Li, H. T. Ng, A. Cassell, W. Fan, H. Chen, Q. Ye, J. Koehne, J. Han, M. Meyyappan “Carbon Nanotube Nanoelectrode Array for Ultrasensitive DNA Detection” *Nano Lett.*, **3**, 597 (2003).
18. J. Wang, M. Musameh “Carbon Nanotube/Teflon Composite Electrochemical Sensors and Biosensors” *Anal. Chem.*, **75**, 2075 (2003).
19. T. Ito, L. Sun, R. M. Crooks “Simultaneous Determination of the Size and Surface Charge of Individual Nanoparticles Using a Carbon Nanotube-Based Coulter Counter” *Anal. Chem.*, **75**, 2399 (2003).
20. A. T. Woolley, C. Guillemette, C. L. Cheung, D. E. Housman, C. M. Lieber “Direct haplotyping of kilobase-size DNA using carbon nanotube probes” *Nat. Biotechnol.*, **18**, 760 (2000).
21. S. P. Fodor, J. L. Read, M. C. Pirrung, L. Stryer, A. T. Lu, D. Solas “Light-directed, spatially addressable parallel chemical synthesis” *Science*, **251**, 767 (1991).
22. J. Wang “From DNA biosensors to gene chips” *Nucleic Acids Res.*, **28**, 3011 (2000).
23. M. M. Miller “A DNA array sensor utilizing magnetic microbeads and magnetoelectronic detection” *J. Magnetism Magnetic Mat.*, **225**, 138 (2001).

24. H. K. Kang, et al “Planar nanogap capacitor arrays on quartz for optical and dielectric bioassays” 7th Int. Conf. on Miniaturized Chem Biochem Anal Systems. Squaw Valley, CA (www.chem.ualberta.ca/~microtas/Volume1/173-473.pdf).
25. G. Wu, R. H. Datar, K. M. Hansen, T. Thundat, R. J. Cote, A. Majumdar “Bioassay of prostate-specific antigen (PSA) using microcantilevers” *Nat. Biotechnol.*, **19**, 856 (2001b).
26. O. A. Saleh, L. L. Sohn “Quantitative sensing of nanoscale colloids using a microchip Coulter counter” *Rev. Sci. Instrum.*, **72**, 4449 (2001).
27. O. A. Saleh, L. L. Sohn “Direct detection of antibody-antigen binding using an on-chip artificial pore” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **100**, 820 (2003).
28. J. Li, et al. “Solid state nanopore as a single DNA molecule detector” *Biophys. J.*, **84**, 134A (2003).
29. A. Meller, L. Nivon, E. Brandin, J. Golovchenko, D. Branton “Rapid nanopore discrimination between single polynucleotide molecules” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **97**, 1079 (2000).
30. R. Austin “Nanopores: the art of sucking spaghetti” *Nat. Mater.*, **2**, 567 (2003).
31. Y. Arntz, J. D. Seelig, H. P. Lang, J. Zhang, P. Hunziker, J. P. Ramseyer, E. Meyer, M. Hegner and Ch. Gerber “Label-free protein assay based on a nanomechanical cantilever array” *Nanotechnology*, **14**, 86 (2003).
32. G. Binnig, H. Rohrer “Scanning Tunneling Microscopy” *Helv. Phys. Acta*, **55**, 726 (1982).
33. G. Binnig, H. Rohrer, G. Gerber, E. Weibel “7x7 reconstruction on Si(111) resolved in real space” *Phys. Rev. Lett.*, **50**, 120 (1983).
34. D.M. Eigler, E.K. Schweizer “Positioning single atoms with a scanning tunneling microscope” *Nature*, **344**, 524 (1990).
35. M.F. Crommie, C.P. Lutz, D.M. Eigler “Confinement of electrons to quantum corrals on a metal surface” *Science* **262**, 218 (1993).
36. G. Binnig, C. F. Quate, Ch. Gerber “Atomic Force Microscope” *Phys. Rev. Lett.*, **56**, 930, (1986).
37. O. Marti, A. Ruf, M. Hipp, H. Bielefeldt, J. Colchero, J. Mlynek “Mechanical and thermal effects of laser irradiation on force microscope cantilevers” *Ultramicroscopy*, **42-44**, 345 (1992).
38. T. Thundat, FL J. Warmack, G. Y. Chen, and D. P. Allison “Thermal and ambient-induced deflections of scanning force microscope cantilevers” *Appl. Phys. Lett.*, **64**, 2894 (1994).
39. B. Illic, D. Czaplewski, H. G. Craighead, P. Neuzil, C. Campagnolo, C. Batt “Mechanical resonant immunospecific biological detector” *Appl. Phys. Lett.* **77**, 450 (2000).
40. D. W. Carr, S. Evoy, L. Sekaric, H. G. Craighead, J. M. Parpia “Measurement of mechanical resonance and losses in nanometer scale silicon wires” *Appl. Phys. Lett.*, **75**, 920 (1999).
41. A. Gupta, D. Akin and R. Bashir “Single virus particle mass detection using microresonators with nanoscale thickness” *Appl. Phys. Lett.* **84**, 1976 (2005)
42. K.Y. Gfeller, N. Nugaeva, M. Hegner, “Rapid Biosensor for Detection of Antibiotic-Selective Growth of Escherichia coli” *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, 2626 (2005).
43. K. Y. Gfeller, N. Nugaeva, M. Hegner “Micromechanical oscillators as rapid biosensor for the detection of active growth of Escherichia coli” *Biosens. Bioelectron.* **21**, 528 (2005).

44. B. Illic, Y. Yang, K. Aubin, R. Reichenbach, S. Krylov, H. G. Craighead "Enumeration of DNA Molecules Bound to a Nanomechanical Oscillator" *Nano Lett.* **5**, 925 (2005).
45. M. Varshney, P. S. Waggoner, C. P. Tan, K. Aubin, R. A. Montagna, H. G. Craighead "Prion protein detection using nanomechanical resonator arrays and secondary mass labeling" *Anal. Chem.*, **80**, 2141 (2008).
46. K. L. Ekinci, X. M. H. Huang, M. L. Roukes "Ultrasensitive nanoelectromechanical mass detection" *Appl. Phys. Lett.* **84**, 4469 (2004).
47. K. L. Ekinci, Y. T. Yang, M. L. Roukes "Ultimate limits to inertial mass sensing based upon nanoelectromechanical systems" *J. Appl. Phys.* **95**, 2682 (2004).
48. M. Belov, N. J. Quitoriano, S. Sharma, W. K. Hiebert, T. I. Kamins, S. Evoy "Mechanical resonance of clamped silicon nanowires measured by optical interferometry" *J. Appl. Phys.* **103**, 074304 (2008).
49. D. Garcia-Sanchez, A. San Paulo, M. J. Esplandiu, F. Perez-Murano, L. Forro, A. Aguasca, A. Bachtold "Mechanical Detection of Carbon Nanotube Resonator Vibrations" *Phys. Rev. Lett.* **99**, 085501 (2007).
50. B. Lassagne, D. Garcia-Sanchez, A. Aguasca, A. Bachtold "Ultrasensitive Mass Sensing with a Nanotube Electromechanical Resonator" *Nano Lett.* **8**, 3735 (2008).
51. K. Jensen, Kwanpyo Kim, A. Zettl "An atomic-resolution nanomechanical mass sensor" *Nature Nanotechnol.* **3**, 533 (2008).
52. R. G. Knobel "Mass sensors: Weighing single atoms with a nanotube" *Nature Nanotechnol.* **3**, 525 (2008).

Capítulo 1

Sensores Nanomecánicos

En este Capítulo se hace una introducción a los Sensores Nanomecánicos. Para ello comenzaremos describiendo las diferencias entre el modo estático y el modo dinámico. En el modo estático la detección se hace midiendo la deflexión que sufre la micropalanca debida a una tensión superficial diferente entre las caras superior e inferior de la misma. Mediante un sencillo razonamiento llegaremos a una expresión que permite relacionar la deflexión con el cambio en la tensión superficial diferencial. Por otro lado, dentro del modo dinámico mostramos una medida de adsorción de masa y, mediante una sencilla aproximación al modelo del oscilador armónico, explicaremos el cambio en la resonancia de la palanca.

Continuamos el capítulo mostrando las diferentes técnicas que existen actualmente para medir tanto la deflexión como la frecuencia de resonancia de las micropalancas, con especial énfasis en las medidas ópticas, que son las que se han implementado en el desarrollo de la presente tesis doctoral.

1.1. SENSORES NANOMECAÑICOS

El desarrollo del microscopio de fuerzas atómicas (AFM en sus siglas en inglés “Atomic Force Microscopy”) en 1986 [1] trajo consigo numerosos avances en el campo de la ingeniería de materiales y el control electrónico de señales a alta frecuencia. El principio de operación está basado en la interacción de una punta muy afilada con la superficie de la muestra a analizar. La punta se encuentra situada en el extremo de una micropalanca que realiza diferentes barridos a lo largo de la muestra. La información puede extraerse de dos formas diferentes: barriendo la superficie manteniendo el contacto entre la punta y la muestra, con lo que se puede extraer información acerca de la topografía midiendo las deflexiones de la palanca; y monitorizando los cambios que sufre la resonancia de la micropalanca vibrando cerca de la muestra debidos a la interacción con la superficie. Esta versatilidad de usos ha dado como resultado toda una familia de microscopías tales como la microscopía de fuerzas eléctricas o de fuerzas magnéticas (“Magnetic Force Microscopy” o MFM), todos ellos agrupados bajo la nomenclatura de microscopios de campo próximo o SPM (siglas en inglés de “Scannig Probe Microscopy”). Además del uso de estas palancas, así como otros dispositivos nanomecánicos, también denominados MEMS (“Micro Electro Mechanical Systems”) o NEMS (“Nano Electro Mechanical Systems”), como sensores, no sólo en el campo de la biología o la química, sino, por ejemplo como acelerómetros.

Utilizando estos mismos principios físicos, ha surgido recientemente una nueva familia de sensores basados en sistemas mecánicos flexibles (palancas, puentes o membranas) en el rango micro y nanométrico. El más sencillo de estos dispositivos, y cuyo uso está más extendido, es una micropalanca que se puede utilizar de dos formas diferentes que explicaremos con más detenimiento en la próxima sección: el modo estático, donde una tensión diferencial entre las caras superior e inferior de la palanca origina una deflexión medible; y el modo dinámico, que mide las variaciones de la frecuencia de resonancia debidas al cambio de masa o las propiedades de la palanca originadas por la adsorción de moléculas sobre su superficie.

Los dispositivos nanomecánicos han demostrado tener una gran versatilidad tanto en los sistemas que se utilizan en la detección (ópticos, piezorresistivos, capacitivos) como en los que se emplean en la excitación de la palanca (mecánicos, electrostáticos, electromagnéticos, fototérmicos) para la detección de todo tipo de agentes biológicos, químicos o gases.

Estos dispositivos se pueden fabricar de diferentes formas con el fin de que respondan a las necesidades concretas del uso al que estén destinados. Se pueden variar tanto sus dimensiones geométricas como los materiales utilizados. Además, se pueden agrupar en forma de matrices que, mediante una funcionalización adecuada de cada elemento particular pueden ser utilizadas para realizar diferentes ensayos en paralelo, detectando al mismo tiempo diferentes entidades biológicas o químicas. La gran flexibilidad que presentan en cuanto a formas y tamaños hace posible nuevos diseños que permitan la implementación de sistemas de microfluídica o sistemas electrónicos de lectura en un solo chip.

Los sensores estáticos utilizan una tecnología mucho más madura, en el sentido de bien establecida en la literatura, y accesible en el mercado. Los sistemas basados en micropalancas utilizados para este tipo de aplicación presentan geometrías similares entre si y difieren únicamente en sus dimensiones y materiales de fabricación. Los resonadores nanomecánicos presentan, sin embargo, multitud de formas y tamaños orientados a lograr aumentar la eficiencia en la detección de adsorbatos, aumentando

para ello tanto la frecuencia de resonancia como el factor de calidad. En este sentido, se están fabricando nanoresonadores con masas activas muy pequeñas con el fin de lograr reducir la mínima masa detectable.

El alto interés demostrado en este tipo de transductores nanomecánicos reside en su amplia gama de posibles aplicaciones. Se ha demostrado que son capaces de generar imágenes térmicas [2, 3] y ser de utilidad tanto en circuitos rectificadores para telecomunicaciones [4, 5] como en el almacenamiento de datos [6, 7]. Mientras que los transductores basados en dispositivos microelectromecánicos (MEMS) abarcan multitud de formas y tamaños diferentes [8], se ha demostrado que los dispositivos con formas más sencillas, basados en la geometría de palancas son especialmente apropiados como transductores de estímulos físicos, químicos o biológicos [9-12].

1.1.1. Sensores Nanomecánicos: Modo estático

La primera referencia en la literatura de un dispositivo sensor basado en micropalancas la encontramos en 1994 [13]. Se trata de un sensor de temperatura que opera en modo estático. Los sensores nanomecánicos que actúan en modo estático se basan, tal y como hemos mencionado con anterioridad, en medir la deflexión producida por un cambio en la tensión superficial de la palanca. Esta tensión debe ser diferente en cada una de las dos superficies que componen la palanca para que, de este modo, se produzca un momento de curvatura que la doble, tal y como se observa en la figura 1.1. A continuación vamos a introducir una definición basada en términos termodinámicos de la tensión superficial y como ésta se relaciona con el momento de curvatura de la palanca.

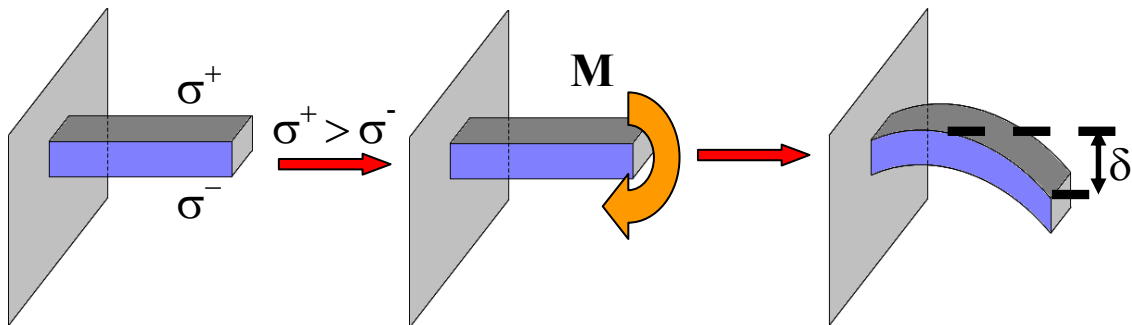


Figura 1.1. Dibujo esquemático de la deflexión estática de una micropalanca debido a una diferencia entre la tensión superficial de la cara superior (σ^+) y la de la cara inferior de la palanca (σ^-). Podemos suponer que esta diferencia origina un momento de curvatura (M en el dibujo) que hace que se doble la palanca una cantidad δ .

Podemos cambiar físicamente el área de las superficies sólidas de dos formas diferentes: por un lado podemos crear, o destruir, superficies sin cambiar la estructura superficial ni sus propiedades por unidad de área; y por otro lado, podemos cambiarla a partir de una deformación elástica a lo largo de la superficie manteniendo constante el

número de unidades de la red atómica mientras que cambiamos la forma, el área y las propiedades de la superficie.

Cada uno de estos dos modos de cambiar físicamente el área lleva asociado una variable termodinámica conjugada: por un lado la energía libre de superficie, γ , es el trabajo necesario para crear una unidad de área en la superficie; mientras que σ es la tensión superficial relacionada con el trabajo de deformar elásticamente la superficie. Definiendo el área superficial en términos de la deformación, lo que sería una medida lagrangiana, el área física, A_H , se relaciona con el área lagrangiana, A , de la siguiente forma,

$$A_H = A(1 + \varepsilon_{ij})$$

donde ε_{ij} es el tensor deformación. En la definición lagrangiana los dos métodos descritos para el cambio unitario de área se corresponden respectivamente con un cambio en A , manteniendo ε_{ij} constante y con un cambio en ε_{ij} manteniendo A constante. Por otro lado, un cambio en ε_{ij} manteniendo A_H constante requiere la creación simultánea (o destrucción) de superficie A .

Utilizando la definición lagrangiana de área, γ y σ están relacionadas de la siguiente manera

$$\sigma_{ij} = \frac{\partial \gamma}{\partial \varepsilon_{ij}}$$

Mientras que en un desarrollo basado en el área física, la relación es un poco más complicada, lo que se conoce en la literatura como fórmula de Shuttleworth [14]

$$\sigma_{ij} = \gamma_H \delta_{ij} + \frac{\partial \gamma_H}{\partial \varepsilon_{ij}}$$

reflejando la naturaleza compleja de un cambio en ε_{ij} manteniendo A_H constante. A pesar de las diferencias que se puedan apreciar entre las dos definiciones anteriormente expuestas, los dos resultados llevan a resultados equivalentes porque debe cumplirse que

$$\gamma = \gamma_H (1 + \varepsilon_{ij})$$

donde γ y γ_H son, respectivamente la energía libre que una porción de superficie tendría en su estado de referencia, y la que tiene realmente.

En 1850 Kirchoff derivó una teoría para calcular la curvatura en láminas paralelas suponiendo que la deformación en cizalla transversal se puede despreciar y que no es necesario añadir términos no lineales siempre y cuando la deformación sea lo suficientemente pequeña. Al contrario que las aproximaciones anteriores llevadas a cabo por Germain y Poisson, pudo demostrar también que no hay ningún tipo de contradicción entre el número de las condiciones de contorno motivadas físicamente y

el orden de las ecuaciones que gobiernan la curvatura si se introducen fuerzas de Kirchhoff en los bordes.

El primero en abordar el tema de los desplazamientos grandes, en combinación con las asunciones de Kirchhoff fue von Karman. El cual demostró que rotaciones moderadas conducen a un acoplamiento entre los momentos de curvatura y las fuerzas normales, que no se tienen en cuenta en las ecuaciones de equilibrio.

Consideremos la energía elástica almacenada en el interior de una lámina sólida. Asumamos también que el material es isotrópico y homogéneo con un módulo de Young E y un coeficiente de Poisson ν . Sean x e y las coordenadas del plano medio de la palanca y z la coordenada perpendicular al plano medio. El plano en el estado de referencia está sometido a una deformación en el plano, ε_{ij} , donde i y j equivalen a x e y . En lo que podríamos llamar “estado corrugado o deformado” la lámina tiene una deflexión $w(x,y)$ en la dirección z . Además, la lámina puede presentar diferentes desplazamientos en el plano $u(x,y)$ y $v(x,y)$.

Haciendo uso de la teoría de von Karman, desde el estado de referencia al estado corrugado, el cambio en la deformación viene dado por [15]

$$\Delta\varepsilon_{ij} = \frac{1}{2} \left(\frac{\partial u_i}{\partial x_j} + \frac{\partial u_j}{\partial x_i} + \frac{\partial w}{\partial x_i} \frac{\partial w}{\partial x_j} \right) - \frac{\partial^2 w}{\partial x_i \partial x_j} z \quad (1.1)$$

donde $z=0$ en el centro de la lámina y $z=\pm t/2$ en las superficies superior e inferior, siendo t el espesor de la lámina. Y u_i y u_j son los desplazamientos en el plano en las direcciones x e y o, lo que es lo mismo, $u(x,y)$ y $v(x,y)$.

Para una lámina delgada en el límite de pequeñas deflexiones, tenemos que el tensor deformación se puede reducir a las siguientes componentes [16]

$$\varepsilon_{xx} = \frac{\partial u}{\partial x} - z \frac{\partial^2 w}{\partial x^2} \quad (1.2)$$

$$\varepsilon_{yy} = \frac{\partial v}{\partial y} - z \frac{\partial^2 w}{\partial y^2} \quad (1.3)$$

$$\varepsilon_{xy} = \frac{\partial u}{\partial y} + \frac{\partial v}{\partial x} - 2z \frac{\partial^2 w}{\partial x \partial y} \quad (1.4)$$

donde u , v y w son, respectivamente, los desplazamientos del plano medio de la lámina en los ejes x , y y z . Cuando la lámina se ve sometida a una tensión superficial homogénea e isotrópica, la ley de Hooke se transforma en

$$\sigma_{xx} = \frac{E}{1-\nu^2} (\varepsilon_{xx} + \nu \varepsilon_{yy}) + \sigma_s(z) \quad (1.5)$$

$$\sigma_{yy} = \frac{E}{1-\nu^2} (\varepsilon_{yy} + \nu \varepsilon_{xx}) + \sigma_s(z) \quad (1.6)$$

$$\sigma_{xy} = \frac{E}{2(1+\nu)} \varepsilon_{xy} \quad (1.7)$$

donde σ_{xx} , σ_{yy} y σ_{xy} son las componentes xx , yy y xy del tensor de tensiones superficiales y se define

$$\sigma_s(z) = \sigma_s^+ \delta\left(z - \frac{t}{2}\right) + \sigma_s^- \delta\left(z + \frac{t}{2}\right) \quad (1.8)$$

donde σ_s^+ y σ_s^- son las tensiones superficiales aplicadas a las superficies superior e inferior de la palanca y δ es la función delta de Dirac.

Como los efectos de las tensiones inducidas en el plano sobre las deformaciones transversales pueden ser despreciadas y estamos en el régimen de deflexiones pequeñas, podemos suponer que es válida la aproximación de que las deformaciones en el plano y aquellas que se producen fuera del plano están desacopladas, esto es, que los desplazamientos w son independientes de los u y v en las ecuaciones 1.2-1.4. En todo el desarrollo posterior no consideraremos las deformaciones en el plano, que son despreciables en la práctica. La deflexión transversal puede calcularse a partir de la evaluación de los momentos de curvatura por unidad de longitud que actúan sobre la lámina. El momento de curvatura por unidad de longitud se calcula como

$$M_b = - \int_{-\frac{t}{2}}^{\frac{t}{2}} \sigma z dz$$

de tal forma que, a partir de las expresiones 1.5-1.7 podemos calcular las componentes del tensor de momentos como

$$M_{xx} = \int_{-\frac{t}{2}}^{\frac{t}{2}} \sigma_{xx} z dz = -D \left(\frac{\partial^2 w}{\partial x^2} + \nu \frac{\partial^2 w}{\partial y^2} \right) + \Delta \sigma_s \frac{t}{2} \quad (1.9)$$

$$M_{yy} = \int_{-\frac{t}{2}}^{\frac{t}{2}} \sigma_{yy} z dz = -D \left(\frac{\partial^2 w}{\partial y^2} + \nu \frac{\partial^2 w}{\partial x^2} \right) + \Delta \sigma_s \frac{t}{2} \quad (1.10)$$

$$M_{xy} = \int_{-\frac{t}{2}}^{\frac{t}{2}} \sigma_{xy} z dz = -D(1-\nu) \frac{\partial^2 w}{\partial x \partial y} \quad (1.11)$$

donde $\Delta \sigma_s = \sigma_s^+ - \sigma_s^-$ es la tensión superficial diferencial aplicada a la palanca y se define

$$D = \frac{1}{12} \frac{E}{1-\nu^2} t^3$$

La satisfacción de las condiciones de equilibrio para los momentos de curvatura y las fuerzas transversales de cizalla (que se evalúan a partir de los momentos de curvatura) que actúan sobre un elemento diferencial de la lámina nos lleva a la ecuación de movimiento de la misma

$$\nabla^4 w = 0 \quad (1.12)$$

A continuación examinaremos las condiciones de contorno para la ecuación 1.12 correspondientes a una palanca con un espesor homogéneo, pero cuya forma es arbitraria. En el extremo fijo, no existe ningún tipo de deflexión o rotación alrededor de ningún eje, por lo que tenemos que

$$\left[w = \frac{\partial w}{\partial n} \right]_{x=0} = 0 \quad (1.13)$$

donde n es la coordenada local perpendicular al eje. En todos los ejes, las componentes normales de los momentos de curvatura y las fuerzas transversales de cizalla deben ser cero, porque, por definición, estos ejes no están deformados. A partir de las ecuaciones 1.9-1.11, tenemos las siguientes condiciones de contorno en los bordes

$$\left[\frac{\partial^2 w}{\partial n^2} + \nu \frac{\partial^2 w}{\partial s^2} \right]_{\text{borde}} = \frac{\Delta \sigma_s t}{2D} \quad (1.14)$$

$$\left[\frac{\partial^3 w}{\partial n^3} + (2 - \nu) \frac{\partial^3 w}{\partial n \partial s^2} \right]_{\text{borde}} = 0 \quad (1.15)$$

donde (n,s) forman un sistema de coordenadas local en el borde, siendo n la componente normal y s la componente tangencial, véase figura 1.2

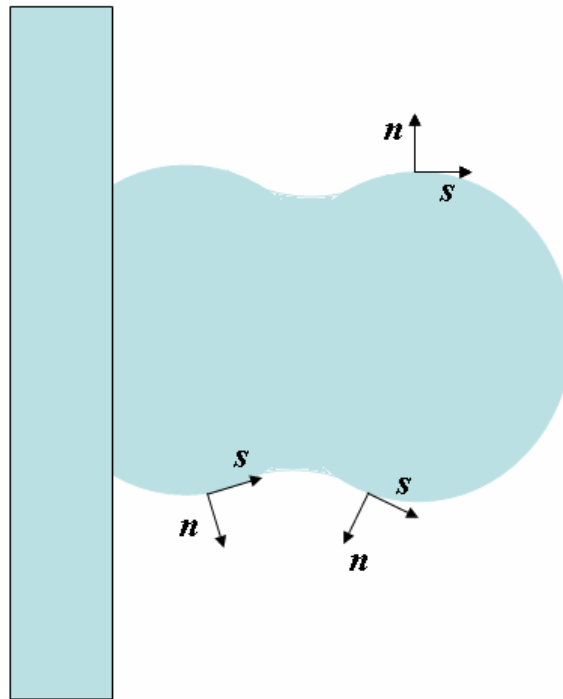


Figura 1.2. Esquema donde se muestra esquemáticamente el sistema de coordenadas normales utilizado. Las componentes n y s son respectivamente la componente normal y tangencial a los bordes de la palanca.

En vista de las ecuaciones 1.9-1.15 vemos que el efecto de aplicar una tensión diferencial a las dos caras de la lámina es equivalente a introducir en el sistema unos momentos de curvatura en los bordes cuya magnitud sea $\Delta\sigma_s t/2$. Este resultado es independiente de la geometría de la palanca. Por tanto, podemos evaluar la deflexión de la palanca resolviendo la ecuación 1.12 con las condiciones de contorno 1.13-1.15, con lo que llegamos a la siguiente solución [17]

$$w(x, y) = \frac{\Delta\sigma_s t}{4D(1+\nu)}(x^2 + y^2) \quad (1.16)$$

solución que se conoce como fórmula de Stoney [18]. Esta ecuación predice que una lámina que sufre una tensión superficial diferencial no nula se doblará con una curvatura constante a lo largo de toda su longitud [19]. Tal y como se ha hecho notar anteriormente, este resultado es independiente de la forma de la palanca siempre y cuando su espesor sea constante. Sin embargo, esta ecuación sólo es válida para láminas sin constricciones, constituyendo una aproximación en el caso de micropalancas, puesto que presentan un extremo fijo. En el Apéndice C se comentan con detalle diferentes modelos complementarios al de Stoney para modelizar la curvatura de una palanca.

Haciendo una aproximación lineal y suponiendo únicamente deflexiones pequeñas, podemos calcular de forma aproximada la curvatura, κ , como la derivada segunda de la deflexión vertical en función de la posición x . A partir de este momento suprimimos la coordenada y de la palanca ya que su efecto en la práctica es despreciable. Por tanto, de acuerdo con la aproximación vista hasta ahora la curvatura, κ , y el radio de curvatura, R , vendrán dados por la siguiente ecuación [20],

$$\Delta\sigma_s = \frac{Et^2}{6(1-\nu)R} = \frac{Et^2}{6(1-\nu)}\kappa \quad (1.17)$$

Esta ecuación se conoce como la fórmula modificada de Stoney, ya que en su artículo original no tiene en cuenta la corrección que introduce el coeficiente de Poisson en el módulo de Young [21]. Teniendo en cuenta las condiciones de contorno impuestas por la geometría de la palanca de sección rectangular podemos hacer una simplificación de la deflexión. En esta aproximación la palanca se supone unidimensional, con una tensión superficial homogénea y en el límite de deflexiones pequeñas

$$\Delta\sigma_s = \frac{Et^2}{3L^2(1-\nu)}\Delta z \quad (1.18)$$

donde Δz es la deflexión del extremo libre. De este modo, podemos ver que la tensión superficial origina una deflexión del extremo libre medible. En la siguiente figura, figura 1.3, monitorizamos el cambio de pendiente que sufre el extremo libre en tiempo real mediante la técnica de la deflexión de haz que analizaremos posteriormente. La palanca tiene una longitud de 200 μm , una anchura de 20 μm y un espesor de 800nm. Es una palanca comercial (Olympus Ltd.) y tiene un recubrimiento de oro de 20nm. Se encuentra alojada en una celda de fluidos y hacemos pasar un flujo constante de agua

desionizada, inyectando a los cinco minutos una solución de mercaptohexanol (MCH) 1mM. Esta molécula presenta un grupo tiol en un extremo que se enlaza químicamente con el oro generando una tensión superficial y, por tanto, doblando la palanca. La naturaleza de la tensión generada y sus efectos sobre las propiedades mecánicas de la palanca se discutirán con más detenimiento a lo largo de la presente tesis.

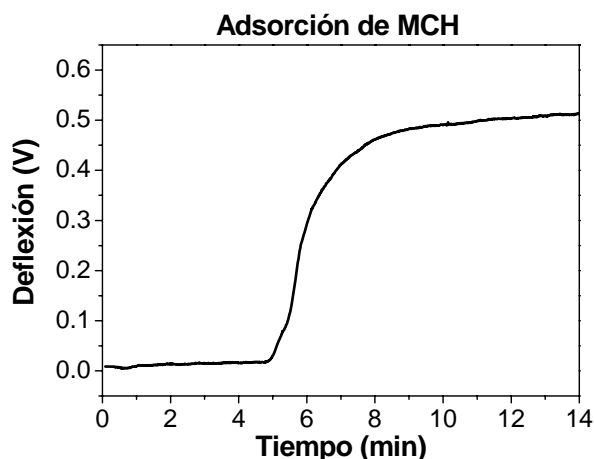


Figura 1.3. Deflexión en tiempo real del extremo libre de una palanca comercial recubierta de oro en uno de sus extremos debido a la adsorción de una molécula orgánica.

Tal y como vemos, la definición del sensor como estático responde a las velocidades implicadas en los procesos que intervienen, del orden de minutos, que son mucho más lentas que el periodo de las vibraciones de la palanca, del orden de 10^{-4} .

1.1.2. Sensores Nanomecánicos: Modo Dinámico

El modo dinámico de los sensores nanomecánicos se basa en la medida de los cambios en la frecuencia de resonancia de la palanca. La naturaleza y el origen de estos cambios se estudiarán con detenimiento a lo largo de los sucesivos capítulos de la presente tesis. Sin embargo, podemos esbozar el funcionamiento del sensor viendo cómo cambia la frecuencia de resonancia sin entrar a discutir los detalles de la respuesta.

Para este ejemplo medimos la frecuencia de resonancia de una palanca comercial Olympus Ltd. (200 μ m de largo, 20 μ m de ancho y 800nm de espesor) cuya frecuencia natural de resonancia, el primer modo de vibración, se encuentra en 21kHz. Tal y como se explicará en su momento, debido a las condiciones de contorno, las micropalancas presentan diferentes modos de oscilación. En ese sentido no se comportan exactamente igual que un oscilador armónico simple que, recordemos que únicamente presenta una frecuencia de resonancia. Con el fin de ilustrar el modo dinámico elegiremos el segundo modo flexural de oscilación, que presenta una frecuencia de resonancia y factor de calidad más altos que el primero.

El objeto de este experimento es estudiar cómo cambia la frecuencia de resonancia de la palanca al ser sumergida en un líquido que contiene micropartículas de

poliestireno de $0.5\mu\text{m}$ de diámetro. En un primer experimento vamos a monitorizar la frecuencia de resonancia en líquido en tiempo real, viendo cómo varía la vibración de la palanca en agua pura antes y después de inyectar las micropartículas. En la figura 1.4 vemos como el cambio apenas es perceptible debido, en principio, al bajo factor de calidad de la palanca vibrando en agua, lo que se traduce en una gran anchura de los picos.

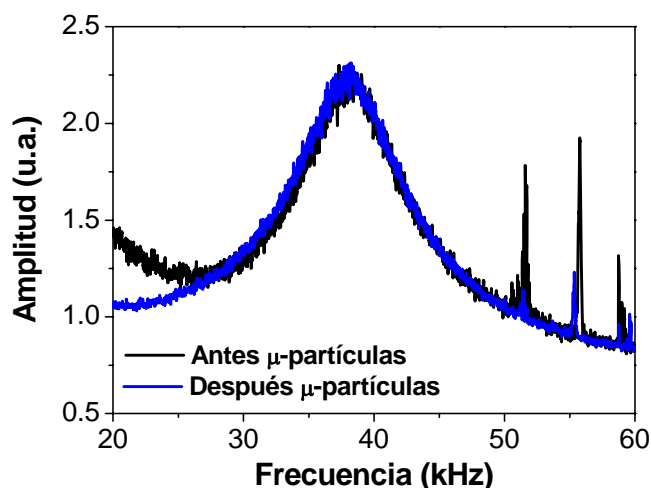


Figura 1.4. Espectro de frecuencia de una palanca en agua antes (línea negra) y después (línea azul) de la deposición de micropartículas de poliestireno.

Tal y como veremos a lo largo del desarrollo de la presente tesis, existen diferentes maneras de aumentar la resolución de la medida de la frecuencia de resonancia. Una de ellas es aumentar el factor de calidad de los picos, lo que se traduce en hacerlos más estrechos. Esto puede conseguirse, tal y como analizaremos más detenidamente en su momento, introduciendo la palanca en un fluido menos denso y viscoso, por ejemplo el aire. De este modo, se caracteriza la frecuencia de resonancia de la palanca en aire, después se sumerge en el líquido que contiene las nanopartículas y, tras el consiguiente proceso de lavado y secado, procederemos a volver a medir en aire. En la figura 1.5 vemos el resultado de esta operación. De nuevo la curva negra representa la frecuencia de resonancia de la palanca limpia, mientras que la curva azul la de la palanca con nanopartículas.

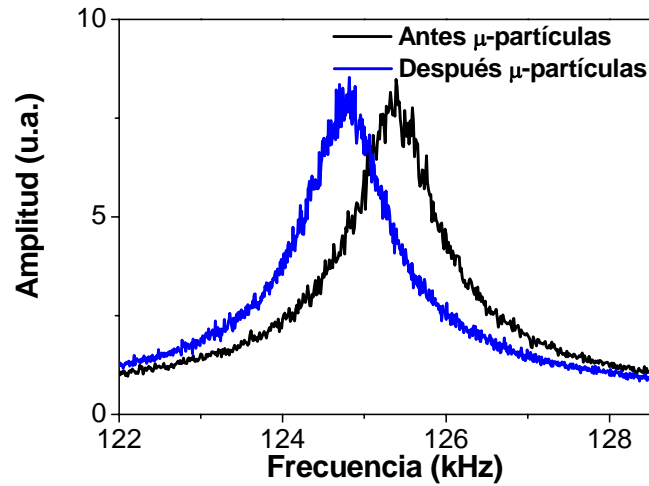


Figura 1.5. Espectro de frecuencia de una palanca en aire antes (línea negra) y después (línea azul) de la deposición de micropartículas de poliestireno.

En este caso sí tenemos resolución suficiente para apreciar un cambio en el comportamiento dinámico de la palanca. Los resonadores nanomecánicos se pueden modelar como osciladores armónicos para cada modo independiente [21,22], cuya frecuencia de resonancia viene dada por

$$\omega_0 = \sqrt{\frac{k}{m}} \quad (1.19)$$

donde k es la constante elástica y m es la masa del resonador. Si una pequeña masa Δm se adhiere al dispositivo, considerando que es pequeña comparada con el resonador, el cambio en la frecuencia se puede calcular en primera aproximación como

$$\Delta\omega = -\frac{1}{2} \frac{\Delta m}{m} \omega_0 \quad (1.20)$$

Por tanto, un incremento en la masa reduciría la frecuencia de resonancia si no tenemos en cuenta ningún otro tipo de efecto, tal y como discutiremos en sucesivos capítulos.

1.2. SISTEMAS DE MEDIDA

Los sensores nanomecánicos requieren técnicas de lectura que, por un lado, permitan la monitorización del movimiento de la palanca en tiempo real y que además presenten una resolución, al menos, sub-nanométrica. Por tanto, una gran parte de los esfuerzos aplicados al desarrollo de un sensor nanomecánico se destinan al proceso de lectura. Estos dispositivos sensores de la posición deben ser capaces de medir diferentes parámetros relacionados con la deflexión de la palanca. Estos parámetros incluyen, entre otros, la posición del extremo libre, la orientación espacial, el radio de curvatura y las tensiones intrínsecas de la palanca. Además, existen requerimientos especiales que dependen tanto del propio dispositivo a medir, como por ejemplo, el tipo de material en el que estén fabricados o la forma geométrica de los mismos, como del uso que se le vaya a dar, esto es, si las medidas van a ser estáticas o dinámicas, la magnitud de la respuesta esperada y el medio en el que se vaya a utilizar (vacío, aire o líquidos). En esta sección se van a discutir los sistemas de medida más ampliamente utilizados en la literatura.

Todos los sistemas de medida se pueden agrupar en dos conjuntos que, a su vez, incluyen otros tipos de sistemas más específicos: los sistemas ópticos y los sistemas eléctricos. Utilizando estos sistemas además de lograr alcanzar la resolución necesaria somos capaces de implementarlos en sistemas de matrices de sensores para la lectura simultánea de varios dispositivos.

Cada uno de los métodos que se van a analizar a continuación presentan varias ventajas e inconvenientes. Por ejemplo, los métodos ópticos, presentan una resolución de medida excelente, sin embargo necesitan que las palancas tengan áreas reflectantes mayores que la longitud de onda de la luz que las ilumina para evitar la difracción. Por tanto, este tipo de técnicas no son apropiadas para medir palancas de tamaños nanométricos. Esto es debido a la pérdida de intensidad y direccionalidad del haz láser reflejado sobre superficies de tamaños comparables a su longitud de onda debido a la dispersión que sufre. Sin embargo, las técnicas basadas en transferencia de electrones (efecto túnel), pueden emplearse en palancas de unos pocos cientos de nanómetros de longitud. En este tipo de esquemas de lectura, una tarea todavía pendiente es la lectura simultánea de matrices que contienen grandes cantidades de palancas altamente empaquetadas. El concepto básico sobre el que se asienta esta técnica es similar a la transferencia de carga electrostática descrita en la literatura [24]. Sin embargo, la implementación de este tipo de técnicas en medios líquidos todavía constituye un gran desafío a nivel técnico ya que los iones de los electrolitos tienden a causar corrientes parásitas que se imponen a la señal de la transferencia de electrones. Estas corrientes pueden, sin embargo, ser reducidas mediante el uso de aislantes apropiados, reduciendo el voltaje y controlando los iones de la solución.

1.2.1. Lectura Piezorresistiva

Se define la piezorresistividad como el cambio de la resistividad de un material debido a una deformación aplicada. Cuando se deforma de manera apropiada una palanca de silicio convenientemente dopado (los dopantes más habituales son el boro o el antimonio), el cambio en la resistividad de la región dopada se relaciona con el grado de deformación. Uno de los materiales piezorresistivos más comunes es, como se ha mencionado con anterioridad, el monocristal de silicio dopado [25,26]. Del mismo

modo, se han fabricado palancas de silicio policristalino que exhiben una piezorresistividad importante [27]. La variación en la resistencia se mide normalmente a través de un puente de Wheatstone del cual forma parte la palanca. Las resistencias típicas que se miden en este tipo de palancas de silicio dopado con boro son de unos pocos $k\Omega$. Cuando se aplica un voltaje V a un puente de Wheatstone con resistencias de resistividad inicial idéntica R , el voltaje diferencial a través del puente se puede expresar como $\Delta V = V(\Delta R/4R)$. Las palancas piezorresistivas se suelen diseñar con dos patas idénticas, de tal modo que la resistencia del canal de boro se puede medir conectando dos electrodos cerca de la base de las dos patas. En la figura 1.6 se muestra una palanca comercial que se puede utilizar también en AFM. La mayor desventaja de estas técnicas piezorresistivas reside en que requieren que la corriente fluya a través de la palanca. Esto implica una disipación de calor adicional y, por tanto, la presencia de derivas térmicas. Cuando una palanca se calienta muy por encima de la temperatura ambiente, cualquier cambio en la conductividad térmica del medio que la rodea da como resultado fluctuaciones en la temperatura de la palanca que, pueden derivar en deflexiones parásitas y cambios en la piezorresistencia.

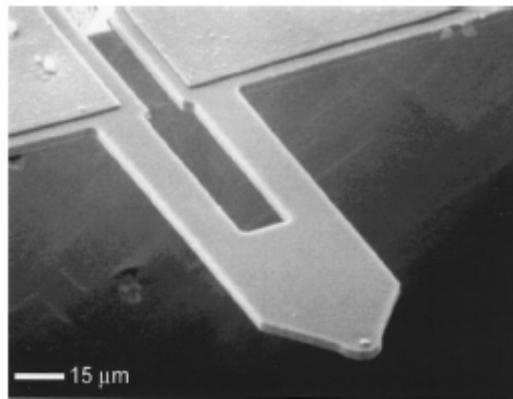


Figura 1.6. Micropalanca comercial utilizada en AFM fabricada en un material piezorresistivo. Las dos patas que aparecen en la base permiten la circulación de una corriente eléctrica integrando a la micropalanca en el circuito de lectura.

1.2.2. Lectura piezoeléctrica

La lectura piezoeléctrica requiere la deposición controlada de una capa de material piezoeléctrico, como por ejemplo ZnO, sobre la palanca. Debido al efecto piezoeléctrico, se inducen cargas transitorias en la capa piezoeléctrica cuando se deforma la palanca [28].

Lee y White [29] desarrollaron palancas piezoeléctricas capaces de auto – excitarse con frecuencias en el rango de las ondas acústicas. La palanca piezoeléctrica utilizada en estos estudios contenía una lámina de óxido de zinc (ZnO), que es piezoeléctrico, embebido entre dos láminas de aluminio sobre una capa de nitruro de silicio. Posteriormente, Lee y colaboradores comenzaron a fabricar micropalancas utilizando láminas de PZT [30]. Las dimensiones de estas palancas son $100\mu\text{m}$ de ancho, $200\mu\text{m}$ de largo y $2.1\mu\text{m}$ de espesor que tiene una sensibilidad gravimétrica de $300\text{cm}^2\text{g}^{-1}$, lo que permite la detección de 5ng. Esta sensibilidad se determinó depositando una cantidad de oro conocida en uno de los lados de la palanca. Más recientemente, se ha demostrado la capacidad de estas palancas piezoeléctricas como

plataformas de detección química con un consumo energético del orden de los 10^{-9} W [31].

La principal desventaja de las palancas piezoeléctricas, así como de la lectura piezorresistiva, es que requieren la conexión a la palanca de contactos eléctricos. Además, con el fin de obtener una señal de salida suficientemente grande, requiere unos espesores que son mayores de los mecánicamente óptimos. Más aún, la lectura piezoeléctrica se ha mostrado ineficiente a la hora de detectar cambios lentos en la deflexión de la palanca. Debido a estas desventajas que presentan estos dispositivos, la lectura piezoeléctrica para sensores basados en micropalancas está, en cierto sentido, limitada a ciertos grupos de investigación.

1.2.3. Lectura Capacitiva

La lectura capacitiva se basa en la medida de la capacitancia entre un conductor sobre la palanca y otro conductor fijo en el substrato que está separado de la palanca por un pequeño espacio [32]. Los cambios producidos en esta separación debidos a la deflexión de la palanca dan como resultado un cambio en la capacitancia entre las dos placas conductoras. Como la capacitancia entre dos placas plano paralelas es inversamente proporcional a la distancia de separación, la sensibilidad de este método reside en que la separación inicial entre las placas conductoras sea muy pequeña. Este método de lectura se ve afectado por las posibles variaciones en la constante dieléctrica del medio [33]. A pesar de que estos efectos se pueden minimizar utilizando sistemas de medida diferenciales, este tipo de esquemas no se pueden utilizar en medios eléctricamente conductores, como por ejemplo soluciones con electrolitos. La principal ventaja de la lectura capacitiva es que es completamente compatible con la tecnología CMOS estándar. Una variación interesante de los métodos capacitivos es el régimen de “transporte electrónico”, especialmente prometedor para dispositivos nano-electromecánicos. Por ejemplo, Blick y Erbe han mostrado lo que se ha venido a llamar “campanas cuánticas” [34,35] que consisten en cinco palancas metálicas que operan en el régimen de las radio frecuencias cogiendo selectivamente electrones provenientes de un conductor en cada ciclo de oscilación, figura 1.7.

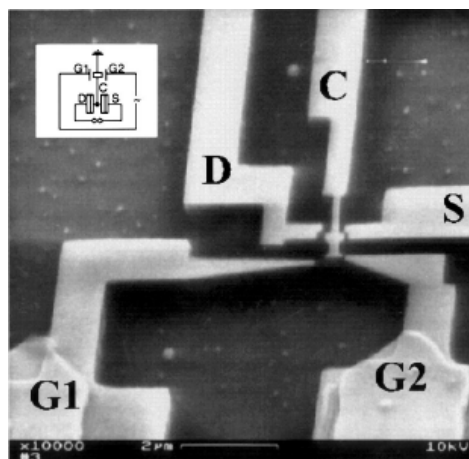


Figura 1.7. Campana cuántica. El resonador nanomecánico C se mueve entre el drenador (D) y la fuente (S). Hay dos electrodos que actúan como puertas (G1 y G2). En el movimiento de oscilación el resonador coge electrones de la fuente y los deposita en el drenador.

1.2.4. Efecto túnel

Este efecto ya ha demostrado su eficacia al medir la deflexión de palancas en AFM [13]. El efecto túnel de los electrones ocurre cuando la distancia entre una punta conductora y la palanca es menor de un nanómetro. Aplicando un voltaje entre la punta y la palanca tenemos un flujo de electrones. Esta corriente túnel es muy sensible a la distancia de separación y, por tanto, se utiliza para medir con mucha precisión los cambios de posición. Se puede describir esta corriente como [36]

$$I \propto V e^{-a\sqrt{\Phi s}}$$

donde V es el voltaje aplicado, Φ es la altura de la barrera de potencial túnel, s es la separación que tienen que saltar los electrones y a es un factor de conversión con un valor de $1.025 \text{ \AA}^{-1} \text{ eV}^{-1/2}$. Para valores típicos de Φ y s , la corriente túnel se incrementa en un orden de magnitud para cada cambio de 0.1 nm en s [37]. Por tanto, los sistemas de lectura basados en el efecto túnel presentan una alta sensibilidad a cambios relativos de la posición, una respuesta no lineal y un rango dinámico limitado. Utilizando este tipo de sistemas de lectura se han reportado en la literatura medidas de desplazamientos de 10^{-4} nm [37]. Además, se debe tener en cuenta que la corriente túnel es sensible a la naturaleza de los materiales entre los que se produce, por tanto, la implementación de este tipo de dispositivos constituye un gran esfuerzo técnico cuando debe utilizarse para diferentes tipos de muestras. A pesar de estas limitaciones, la lectura basada en el efecto túnel ha sido aplicada con éxito en acelerómetros [37], sensores de infrarrojo [38] y sensores de campo magnético [39].

1.2.5. Métodos ópticos

Los sensores basados en dispositivos micro-electro-mecánicos no sólo han heredado del microscopio de fuerzas las ventajas derivadas del uso de micropalancas, sino que también son deficitarios del uso del método de “deflexión de haz” para la detección de las deflexiones inducidas en las palancas. Los métodos ópticos de lectura incluyen el método de deflexión de haz [40] y aquellos basados en interferometría óptica [41,42].

1.2.5.1. El Método de la Deflexión de Haz

El método de la deflexión de haz es el método más utilizado tanto en AFM como en sensores nanomecánicos para cuantificar las deflexiones de la palanca, tanto dinámicas como estáticas. Este método está basado en la reflexión de un haz de luz sobre la palanca que es recogido por un fotodiodo segmentado o un detector sensible a la posición (PSD en sus siglas en inglés “Position Sensitive Detection”). Las fuentes de luz que suelen utilizarse para este tipo de medidas son diodos emisores de luz (LED en sus siglas en inglés “Light Emitter diode”) y láseres de diodo.

Los fotodiodos, divididos en dos o cuatro cuadrantes, se encargan de la conversión de la energía luminosa de la luz que llega a cada segmento en una señal

eléctrica que puede ser amplificada, comparada con otras y monitorizada. La deflexión de la palanca cambia la posición del haz de luz reflejado sobre el fotodiodo (debido al cambio en el ángulo de reflexión) y, en consecuencia, la cantidad de luz que llega a cada segmento. Los fotodiodos segmentados en cuatro cuadrantes son capaces, en principio, de medir dos tipos de modos de vibración de la palanca (flexurales y torsionales) simultáneamente.

En un experimento típico, el spot de luz reflejado sobre la superficie de la palanca se centra en el fotodiodo, de tal forma que todos los segmentos del mismo reciban la misma cantidad de luz al comienzo de cada experimento. De esta forma, cuando la palanca se dobla y el spot del láser se desplaza sobre la superficie del fotodiodo segmentado, la posición del mismo y, por tanto, la deflexión de la palanca se pueden determinar utilizando las salidas de cada uno de los cuadrantes.

Los PSD son fotodiodos monolíticos PIN (*“Positive Intrinsic Negative”*) con una resistencia uniforme en una o dos dimensiones. La luz incidente en la región fotosensible del PSD genera dos corrientes, cada una de ellas inversamente proporcional a la distancia del spot con respecto al final de dicha región. La diferencia entre las fotocorrientes se convierte a un voltaje, que se amplifica. Estos dispositivos poseen una resolución en la medida de la posición aceptable y una velocidad de respuesta rápida razonable en función de la electrónica que necesiten para su control. La gran ventaja de estos dispositivos es que responden de forma lineal en toda la superficie.

La técnica de deflexión de haz es actualmente uno de los métodos más sensibles, baratos y extendidos para medir la deflexión de la palanca. Con esta técnica se han medido deflexiones del orden de unos pocos angstroms. Sin embargo, presenta la desventaja de que el láser, el sistema de posicionamiento y el detector deben estar fuera de la celda que contiene a la palanca que puede estar sumergida en líquido o en el gas que se quiera analizar. Esto es un problema ya que esta técnica de detección no se puede utilizar cuando la micropalanca se encuentra en un medio que dispersa o absorbe la luz, como puede ser una disolución de micropartículas en suspensión o líquidos coloreados como la sangre [43]. Además, las dimensiones del láser y el detector son mucho mayores que las de la micropalanca a analizar, lo que compromete la portabilidad del dispositivo.

Esta técnica permite para la medida de matrices de palancas. Sin embargo, a pesar que se han propuesto una gran cantidad de diseños diferentes, sólo hay dos propuestas extendidas en la literatura. La primera aproximación es tener diferentes fuentes de luz y detectores, tantas como palancas tenga la matriz que queremos medir. Esta aproximación permite la medida cuasi simultánea (secuencial) de todas las palancas, sin embargo, requiere la integración de una gran cantidad de fuentes de luz independientes, además de todos los detectores, lo que hace que el procesado de la señal sea complejo y poco versátil. El coste se puede reducir utilizando una lectura simultánea de cada palanca y recogiendo todos los haces reflejados en un solo detector, método de lectura simultánea desarrollado en el grupo. La manera de lograrlo es utilizar un haz láser que se desplaza en la dirección perpendicular al eje largo de la palanca [44,45]. En la figura 1.8 se puede ver un esquema del funcionamiento del dispositivo, donde se puede ver el sentido del barrido del láser y, para una matriz comercial de cinco palancas, el perfil de intensidad de luz recogida por el PSD al hacer un barrido transversal

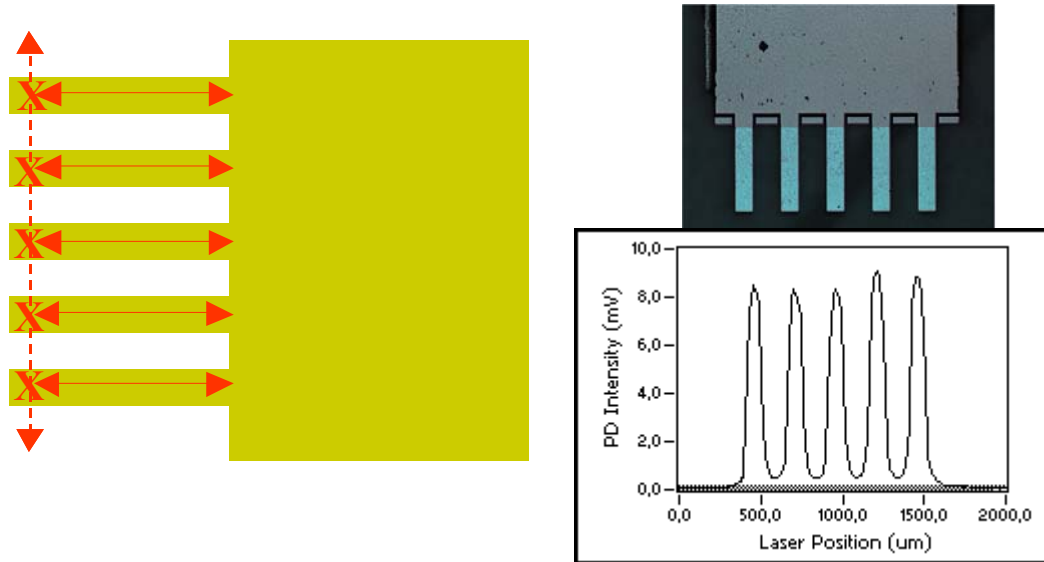


Figura 1.8. Esquema que muestra el sentido de barrido perpendicular al eje largo de la palanca. En la micrografía óptica se muestra una matriz de 5 palancas comerciales y el perfil de intensidad recogido por el PSD al hacer el barrido.

Modificando el sentido del barrido, en la dirección del eje de la palanca, podemos extraer información acerca del perfil de la palanca. Para ello, y teniendo en cuenta una serie de consideraciones acerca de los ángulos que forman el plano de la palanca con el PSD, sólo tenemos que integrar la señal de salida.

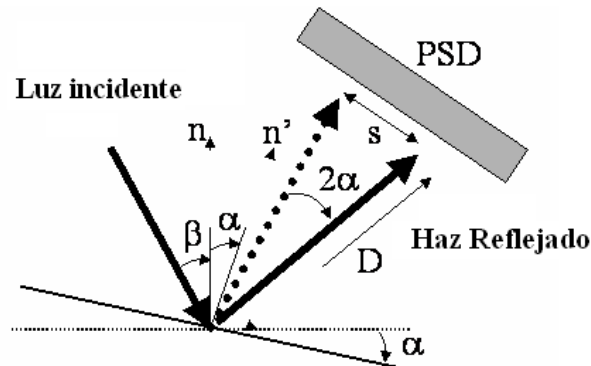


Figura 1.9. Esquema donde se definen las distancias y ángulos implicados en la obtención del perfil de la palanca.

Tal y como se puede ver en la figura anterior, figura 1.9, un cambio en la pendiente de la palanca se traduce en un cambio de la posición del spot del láser sobre el PSD, que denominaremos $s(x)$. De este modo, el desplazamiento del spot sobre el PSD cuando se escanea en la dirección de la palanca puede describirse como

$$s(x) = 2D \frac{dz(x)}{dx} + x \cos \beta$$

Donde x es la coordenada longitudinal a lo largo de la palanca, $z(x)$ es el perfil de la palanca, el desplazamiento vertical de cada punto de la palanca, D es la distancia entre la palanca y el PSD y β , tal y como se puede ver en la figura 1.9, es el ángulo entre el

haz láser incidente y la normal a la palanca en su posición inicial. El segundo término de la ecuación anterior tiene en cuenta el efecto del desplazamiento del láser, que es, en general, pequeño comparado con el primer sumando que se asocia a las variaciones de la pendiente de la palanca. De este modo, el perfil se obtiene integrando esta ecuación

$$z(x) = \frac{1}{2D} \int_0^x s(x') dx' - \frac{1}{4D} x^2 \cos \beta$$

En la siguiente fotografía, figura 1.10, podemos observar el tamaño del spot del láser sobre las palancas. La resolución de la medida depende del tamaño inicial del spot. De hecho, tenemos una cierta incertidumbre en la determinación tanto de la posición del extremo libre como del extremo fijo que depende de manera directa del tamaño del spot del láser.

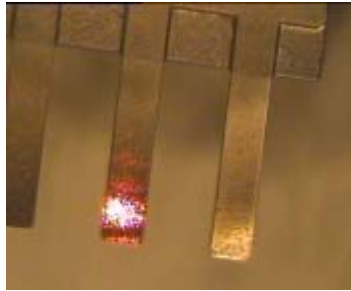


Figura 1.10. Micrografía óptica donde se puede apreciar el spot del láser sobre una palanca perteneciente a una matriz comercial. El diámetro del spot es aproximadamente 100µm.

Aplicando esta técnica podemos observar el comportamiento mecánico de una matriz compuesta por cinco palancas de silicio comercial (MikroMasch) cubiertas por una fina capa de oro en uno de sus lados. Esta matriz se introduce en una solución acuosa que contiene mercaptohexanol (MCH). Este compuesto forma una capa densamente compacta sobre la superficie de oro, tal y como se describió en la sección anterior, sección 1.2.1, generando una tensión diferencial sobre los dos lados de la palanca, por lo que ésta se ve obligada a curvarse.

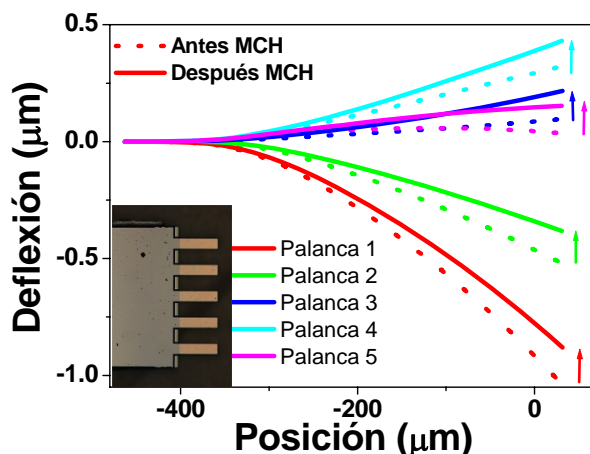


Figura 1.11. Medida del perfil experimental antes (línea discontinua) y después (línea continua) de la adsorción del mercapto – hexano – tiol sobre la cara cubierta de oro de la matriz de micropalancas comerciales que se muestran en la micrografía.

La figura 1.11 muestra la medida de los perfiles de las cinco palancas en agua antes y después de la adsorción de MCH. La velocidad de desplazamiento del haz láser fue $500\mu\text{m/s}$. En vista de estos resultados, lo que podemos concluir es que independientemente de la curvatura inicial de la palanca, el cambio en el perfil inducido por la adsorción del MCH es comparable en las cinco. De hecho, si tomamos como referencia la posición inicial, es decir, restamos el perfil inicial, tendremos una dispersión de los resultados muy pequeña.

1.2.5.2. Medidas Interferométricas

La segunda técnica óptica que ha sido utilizada a lo largo del desarrollo de la presente tesis, es la medida interferométrica. Esta técnica se basa en la interferencia constructiva y destructiva que se produce cuando un haz de luz colimado se refleja entre dos superficies plano-paralelas que se desplazan entre sí [46]. En la mayoría de las aplicaciones de esta técnica se utiliza una configuración de Michelson, en la cual se toma como referencia un espejo fijo, siendo la micropalanca el otro punto de reflexión. En nuestro caso utilizamos un haz de He-Ne (632nm , 5mW , Newport) enfocado sobre las palancas. En la figura 1.12 se muestra el esquema con los elementos que intervienen en el montaje del sistema interferométrico

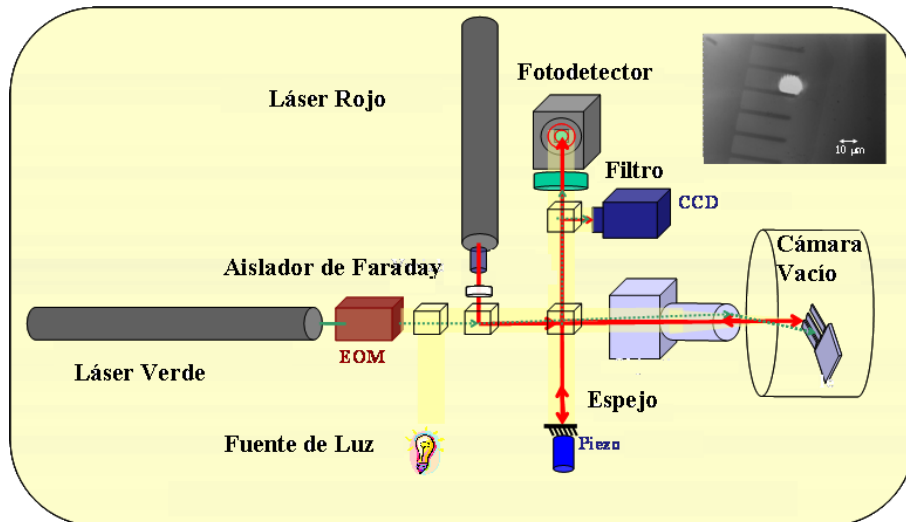


Figura 1.12. Esquema del montaje experimental del sistema interferométrico utilizado para medir las micropalancas. En el margen superior derecho se muestra un detalle de la imagen obtenida mediante la cámara CCD de una matriz de palancas sobre la que se enfoca el haz láser.

En el montaje del interferómetro utilizamos un aislador de Faraday para evitar que el haz reflejado sobre las diferentes superficies de los elementos ópticos entre de nuevo en la cavidad del láser desestabilizando la potencia. Además utilizamos un segundo haz láser, en este caso un láser verde (545nm, 5mW, Edmund Optics Ltd) con el fin de implementar una fuente de excitación óptica de las palancas. Para la modulación de este haz utilizamos un electro-modulador acusto-óptico (EOM en sus siglas en inglés) que se basa en un cristal piezoeléctrico al que debemos introducir la modulación en forma de voltaje. Además de la cámara CCD y su fuente de luz blanca colimada para obtener la imagen óptica de la muestra que estamos analizando, el único elemento diferenciador del sistema es un motor piezoeléctrico en el espejo que utilizamos para posicionarnos en la zona más sensible de la curva de interferencia. En la figura 1.13 se muestra una fotografía del montaje experimental utilizado en el Instituto de Microelectrónica de Madrid

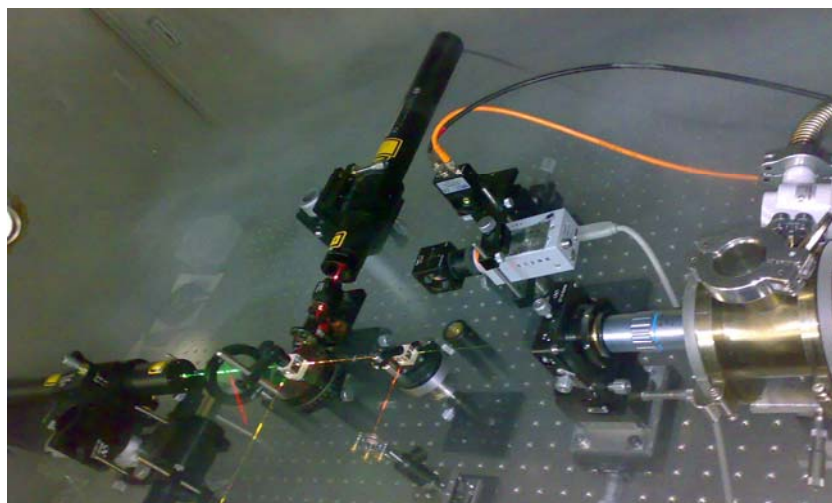


Figura 1.13. Fotografía del montaje experimental utilizado en el Instituto de Microelectrónica de Madrid.

Utilizando este sistema somos capaces de medir la frecuencia de resonancia de múltiples estructuras. Nótese además que tenemos la posibilidad de introducir las muestras sometidas a análisis en una cámara de vacío. Se han medido por ejemplo estructuras formadas por nanohilos de silicio fabricadas en el Instituto de Microelectrónica de Barcelona por el grupo dirigido por el Dr. Álvaro San Paulo [47]. Estos nanohilos se crecen entre dos estructuras de mayor tamaño, una de las cuales está libre, estando sustentada entonces únicamente por el nanohilo, figura 1.14

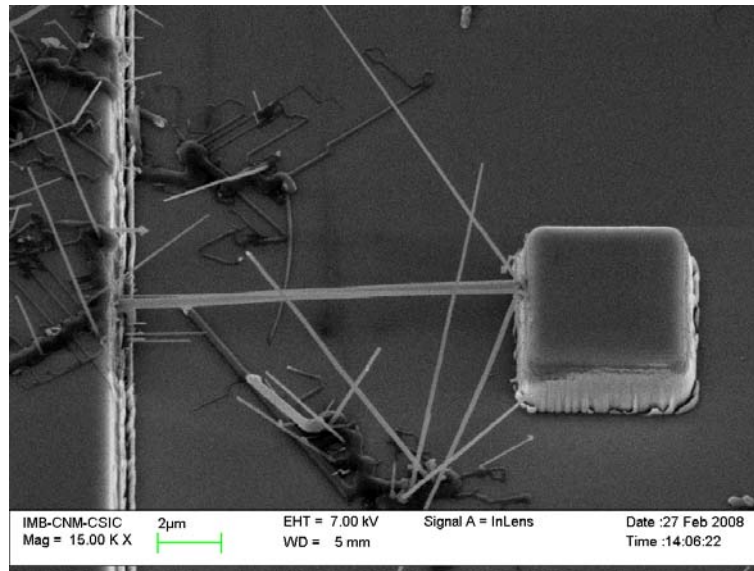


Figura 1.14. Estructura formada por un nanohilo de silicio que sustenta el cuadrado que aparece en la derecha de la imagen. El diámetro del nanohilo es de 300nm y su longitud de varias micras.

Podemos medir entonces la frecuencia de resonancia del cuadrado suspendido. En la figura 1.15 se muestra el primer modo torsional de dicha estructura. Pese a que la frecuencia no es muy alta, este modo no podría haber sido medido con el método de la deflexión de haz porque su amplitud es muy pequeña y necesitamos una gran relación señal – ruido. Esto se consigue en el interferómetro, ya que sólo es sensible a los cambios de intensidad registrados por el movimiento de la estructura.

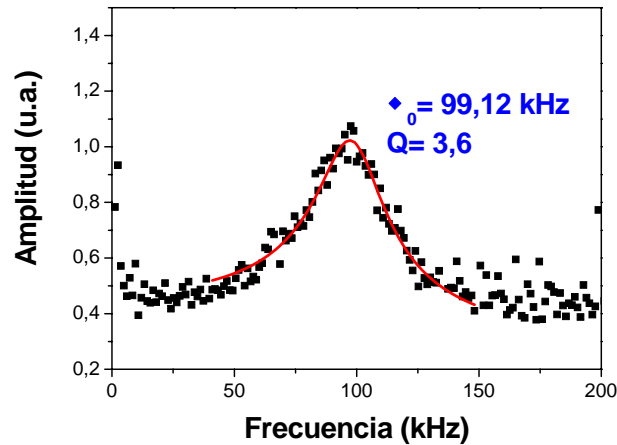


Figura 1.15. Medida experimental de la frecuencia de resonancia del cuadrado suspendido mostrado en la figura I.11 utilizando el sistema interferométrico

REFERENCIAS

1. G. Binning, C. F. Quate, C. Gerber “Atomic Force Microscopy” *Phys. Rev. Lett.*, **56**, 930 (1986).
2. D. Grbovic, N. V. Lavrik, P. G. Datskos, D. Forrai, E. Nelson, J. Devitt, B. McIntyre “Uncooled infrared imaging using biomaterial microcantilever arrays” *Appl. Phys. Lett.*, **89**, 073118 (2006).
3. P. G. Datskos, S. Rajic, I. Datskou “Photoinduced and thermal stress in silicon microcantilevers” *Appl. Phys. Lett.*, **73**, 2319 (1998).
4. S. J. Kim, T. Ono, M. Esashi “Capacitive resonant mass sensor with frequency demodulation detection based on resonant circuit” *Appl. Phys. Lett.*, **88**, 053116 (2006).
5. J. A. Walker “The future of MEMS in telecommunications networks” *J. Micromech. Microeng.*, **10**, R1 (2000).
6. P. Vettiger, M. Despont, U. Drechsler, U. Dürig, W. Häberle, M. I. Lutwyche, H. E. Rothuizen, R. Stutz, R. Widmer, G. K. Binnig “The “Millipede”—More than thousand tips for future AFM storage” *IBM. J. Res. Dev.*, **44**, 323 (2000).
7. H. Kawakatsu, D. Saya, A. Kato, K. Fukushima, H. Toshiyoshi, H. Fujita “Millions of cantilevers for atomic force microscopy” *Rev. Sci. Instrum.*, **73**, 1188 (2002).
8. G. T. A. Kovacs “Micromachined transducers” McGraw-Hill, New York, 1998.
9. N. V. Lavrik, M. J. Sepaniak, P. G. Datskos “Cantilever transducers as a platform for chemical and biological sensors” *Rev. Sci. Instrum.*, **75**, 2229 (2004).
10. K. L. Ekinci, M. L. Roukes “Nanoelectromechanical systems” *Rev. Sci. Instrum.*, **76**, 061101 (2005).

11. P. S. Waggoner, H. G. Craighead “Micro- and nanomechanical sensors for environmental, chemical and biological detection” *Lab Chip*, **7**, 1238 (2007).
12. K. M. Goeders, J. S. Colton, L. A. Bottomley “Microcantilevers: sensing chemical interactions via mechanical motion” *Chem. Rev.*, **108**, 522 (2008).
13. T. Thundat, R. J. Warmack, G. Y. Chen, D. P. Allison “Thermal and ambient-induced deflections of scanning force microscope cantilevers” *Appl. Phys. Lett.*, **64**, 2894 (1994).
14. R. Shuttleworth “The surface tension of Solids” *Proceedings of the Physical Society of London Section B*, **63**(365), 374 (1950).
15. R. Huang, Z. Suo “Very thin solid-on-liquid structures: the interplay of flexural rigidity, membrane force and interfacial force” *Thin Solid Films*, **429**, 273 (2003).
16. J. E. Sader “Surface stress induced deflections of cantilever plates with applications to the atomic force microscope: Rectangular plates” *J. Appl. Phys.*, **89**, 2911 (2001)
17. Y. Zhang, Y.- P. Zhao “Applicability range of Stoney’s formula and modified formulas for a film/substrate bilayer” *J. Appl. Phys.*, **99**, 053513 (2006).
18. G. G. Stoney “The tension of metallic films deposited by electrolysis” *Proceedings of the Royal Society of London*, **82**, 172 (1909).
19. Y. Zhang, Q. Ren, Y.- P. Zhao “modelling analysis of surface stress on a rectangular cantilever beam” *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **37**, 2140 (2004).
20. C. A. Klein “How accurate are Stoney’s equation and recent modifications” *J. Appl. Phys.*, **88**, 5487 (2000)
21. L. B. Freund, J. A. Floro, E. Chason “Extensions of the Stoney’s formula for substrate curvature to configurations with thin substrates or large deformations” *Appl. Phys. Lett.*, **74**, 1987 (1999).
22. S. Dohn, R. Sandberg, W. Svendsen, A. Boisen “Enhanced functionality of cantilever based mass sensors using higher modes” *Appl. Phys. Lett.*, **86**, 233501 (2005).
23. S. Rast, C. Wattering, U. Gysin, E. Meyer “Dynamics of damped cantilevers” *Rev. Sci. Instrum.*, **71**, 2772 (2000).
24. M. T. Tuominen, R. V. Krotkov, M. L. Breuer “Stepwise and Hysteretic Transport Behavior of an Electromechanical Charge Shuttle” *Phys. Rev. Lett.* **83**, 3025 (1999).
25. M. Tortorese, R. C. Barrett, C. F. Quate “Atomic resolution with an atomic force microscope using piezoresistive detection” *Appl. Phys. Lett.*, **62**, 834 (1996).
26. P. I. Oden, P. G. Datskos, T. Thundat, R. J. Warmack “Uncooled thermal imaging using a piezoresistive microcantilever” *Appl. Phys. Lett.*, **69**, 3277 (1996).
27. A. Boisen, J. Thaysen, H. Jensenius, O. Hansen “Environmental sensors based on micromachined cantilevers with integrated read-out” *Ultramicroscopy*, **82**, 11 (2000).
28. D. L. DeVoe, A. P. Pisano “Modeling and optimal design of piezoelectric cantilever microactuators” *J. Microelectromech. Syst.*, **6**, 266 (1997).
29. S. S. Lee, White “Piezoelectric cantilever voltage-to-frequency converter” *Sens. Actuators A*, **71**, 153 (1998).

30. J. H. Lee, K. H. Yoon, T. S. Kim “Characterization of Resonant Behavior and Sensitivity Using Micromachined PZT Cantilever” *Integr. Ferroelectr.*, **50**, 43 (2002).
31. J. D. Adams, G. Parrott, C. Bauer, T. Sant, L. Manning, M. Jones, B. Rogers, D. McCorkle, T. L. Ferrell “Nanowatt chemical vapor detection with a self-sensing, piezoelectric microcantilever array” *Appl. Phys. Lett.*, **83**, 3428 (2003).
32. C. L. Britton, R. L. Jones, P. I. Oden, Z. Hu, R. J. Warmack, S. F. Smith, W. L. Bryan, J. M. Rochelle “Multiple-input microcantilever sensors” *Ultramicroscopy*, **82**, 17 (2000).
33. L. K. Baxter “Capacitive Sensors, Design and Applications” IEEE Press, New York, 1997.
34. A. Erbe, R. H. Blick “Nanomechanical resonators operating at radio frequencies” *Physica B*, **272**, 575 (1999).
35. A. Erbe, C. Weiss, W. Zwerger, R. H. Blick “Nanomechanical Resonator Shuttling Single Electrons at Radio Frequencies” *Phys. Rev. Lett.*, **87**, 096106 (2001).
36. G. Binning, C. F. Quate, C. Gerber “Atomic Force Microscopy” *Phys. Rev. Lett.*, **56**, 930 (1986).
37. G. Binning, H. Rohrer “Scanning tunneling microscopy” *IBM J. Res. Dev.*, **30**, 355 (1986).
38. T. W. Kenny, W. J. Kaiser, J. A. Podosek, H. K. Rockstad, J. K. Reynolds, E. C. Vote “Micromachined tunneling displacement transducers for physical sensors” *J. Sci. Technol. A*, **11**, 797 (1993).
39. T. W. Kenny, W. J. Kaiser, S. B. Waltman, J. K. Reynolds “Novel infrared detector based on a tunneling displacement transducer” *Appl. Phys. Lett.*, **59**, 1820 (1991).
40. D. DiLella, L. J. Whitman, R. J. Colton, T. W. Kenny, W. J. Kaiser, E. C. Vote, J. A. Podosek, L. M. Miller “A micromachined magnetic-field sensor based on an electron tunneling displacement transducer” *Sens. Actuators A*, **86**, 8 (2000).
41. G. Meyer, N. M. Amer “Novel optical approach to atomic force microscopy” *Appl. Phys. Lett.*, **53**, 1045 (1988).
42. D. Rugar, H. J. Mamin, P. Guethner “Improved fiber optic interferometer for atomic force microscopy” *Appl. Phys. Lett.*, **55**, 2588 (1989).
43. M. Hoummady, E. Farnault, T. Yahiro, H. Kawakatsu “Simultaneous optical detection techniques, interferometry, and optical beam deflection for dynamic mode control of scanning force microscopy” *J. Vac. Sci. Technol. B*, **15**, 1539 (1997).
44. L. A. Bottomley, M. A. Poggi, S. Shen “Impact of Nano- and Mesoscale Particles on the Performance of Microcantilever-Based Sensors” *Anal. Chem.*, **76**, 5685 (2004).
45. M. Álvarez, J. Tamayo “Optical sequential readout of microcantilever arrays for biological detection” *Sens. Actuators B*, **B106**, 687 (2005).
46. J. Mertens, M. Álvarez, J. Tamayo “Real-time profile of microcantilevers for sensing applications” *Appl. Phys. Lett.*, **87**, 234102 (2005).
47. M. Helm, J. J. Servant, F. Saurenbach “Read-out of micromechanical cantilever sensors by phase shifting interferometry” *Appl. Phys. Lett.*, **87**, 064101 (2005).

48. A. San Paulo, N. Arellano, J. A. Plaza, R. He, C. Carraro, R. Maboudian, R. T. Howe, J. Bokor, P. Yang “Suspended Mechanical Structures Based on Elastic Silicon Nanowire Arrays” *Nano Letters* **7**, 1100 (2007).

Capítulo 2

Teoría General de Sensores Nanomecánicos: Ecuación de Euler- Bernouilli

En este Capítulo se hace una introducción a la teoría general en la que se enmarcan los Sensores Nanomecánicos, en concreto aquellos que se basan en la medida del cambio en la frecuencia de resonancia de una micropalanca. Para ello primero hacemos una deducción de la ecuación de movimiento de la oscilación de la micropalanca. Esta ecuación surge de manera natural cuando tenemos en cuenta que la micropalanca sufre una deformación general, sin restricciones de ningún tipo. De este modo calculamos el tensor deformación de un sólido rígido y por medio del principio de los trabajos virtuales llegamos a la ecuación de equilibrio. Posteriormente resolvemos esta ecuación bajo diferentes condiciones como la introducción de fuerzas disipativas o de excitación en el sistema. Veremos además cómo la introducción de un modelo sencillo como el oscilador armónico proporciona una solución válida para cada modo de oscilación.

Por otro lado introduciremos el concepto de ruido en frecuencia a partir de la disipación de energía. El ruido en frecuencia se utiliza además para determinar la frecuencia de resonancia propia de la palanca, ya que, salvo que se indique explícitamente lo contrario, siempre mediremos el ruido térmico de la misma.

2.1. INTRODUCCIÓN

Salvo que se indique lo contrario, a lo largo del presente trabajo vamos a utilizar la aproximación de Euler-Bernoulli para describir el movimiento de la palanca [1, 2]. Pese a que existen otros modelos en la literatura más precisos para la descripción de la deformación de estructuras elásticas, por ejemplo la aproximación de Poisson [3], el modelo de Euler-Bernoulli proporciona una descripción muy precisa, tal y como tendremos la oportunidad de descubrir. Este modelo considera las siguientes restricciones

- La palanca está fabricada en un material isótropo y homogéneo, cuyo comportamiento, salvo que se indique explícitamente lo contrario, es elástico.
- El espesor de la palanca es uniforme a lo largo de toda su longitud.
- En cuanto a sus dimensiones debe verificarse que la longitud de la palanca es mucho mayor que su anchura y ésta debe ser a su vez mucho mayor que el espesor. Esta condición implica que las fuerzas de cizalla son despreciables haciéndose más importantes conforme disminuye la relación entre la longitud y el espesor.
- Las fuerzas y momentos aplicados a la palanca son siempre lo suficientemente pequeños como para mantenernos en el régimen lineal, esto es, la deformación será proporcional a la fuerza empleada. Esta restricción se conoce como la “aproximación de deflexiones pequeñas”.
- El eje neutro de la palanca se mantiene siempre en el centro de la palanca excepto cuando se indique de forma explícita lo contrario.
- Las diferentes secciones transversales de la palanca permanecen siempre paralelas entre sí, lo que es una consecuencia directa de despreciar las fuerzas de cizalla.

Al contrario de lo que pueda parecer en un primer momento, estas condiciones no son muy restrictivas en nuestras aplicaciones prácticas y siempre van a verse cumplidas. De hecho podemos llegar a deducir la ecuación de Euler-Bernoulli a partir de una deformación general, únicamente tenemos que hacer una simplificación en la deformación suponiendo que estamos en el caso lineal, tal y como veremos a lo largo de las próximas secciones.

2.2. ECUACIÓN DE MOVIMIENTO DE EULER-BERNOULLI

Para llegar a la ecuación diferencial general de la deflexión de una viga, primero tenemos que suponer que se produce en la misma una deformación. Esta deformación se supone en principio general, sin ningún tipo de restricción [4]. Por lo tanto, debemos fijarnos en cómo cambia el segmento de línea formado por dos puntos dentro del sólido. A partir del cambio en este segmento deduciremos el tensor deformación, a partir del cual podemos calcular el cambio de energía elástica en el sistema, lo que llevará a la ecuación de movimiento suponiendo que estamos en equilibrio y podemos aplicar el principio de los trabajos virtuales.

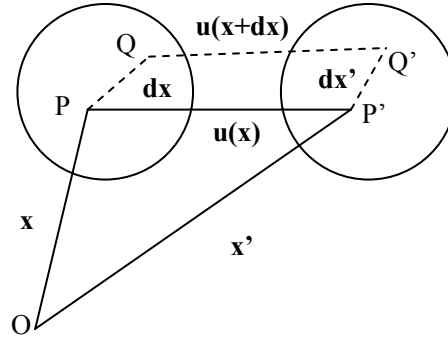


Figura 2.1. Esquema de la deformación general que puede sufrir un sólido rígido.

2.3. TENSOR DEFORMACIÓN

En la figura 2.1 podemos ver un esquema de cómo sería una deformación general en un sólido rígido. La deformación hace que un punto x_k pase a $x'_k = x_k + u_k$. El segmento de línea inicial entre el punto P y el punto Q , es dx_k , luego

$$(ds)^2 = dx_k dx_k$$

Este segmento de línea se transforma en

$$(ds')^2 = dx'_k dx'_k$$

A lo largo de toda la deducción posterior, y mientras no se indique lo contrario, se va a utilizar el convenio de Einstein sobre los índices repetidos. Además, con el fin de aligerar la notación, se va a utilizar el siguiente convenio para las derivadas parciales

$$u_{i,j} \equiv \frac{\partial u_i}{\partial x_j}$$

Del esquema anterior se desprende que

$$dx'_k = dx_k + du_k = dx_k + u_{k,j} dx_j = (\delta_{kj} + u_{k,j}) dx_j$$

donde δ_{kj} es la delta de Kronecker, es decir, $\delta_{kj} = 1$, $k = j$. Tenemos entonces que la deformación se puede calcular como la diferencia entre los segmentos de línea

$$(ds')^2 - (ds)^2 = (\delta_{ki} + u_{k,i}) dx_i (\delta_{kj} + u_{k,j}) dx_j - dx_k dx_k = \frac{1}{2} (u_{i,j} + u_{j,i} + u_{k,i} u_{k,j}) 2 dx_i dx_j$$

A partir de esta expresión podemos definir el tensor deformación lagrangiana [5, 6]

$$\varepsilon_{ij} = \frac{1}{2} (u_{i,j} + u_{j,i} + u_{k,i} u_{k,j}) \quad (2.1)$$

Para una lámina delgada, aquella en la que el espesor es mucho más pequeño que la longitud, este tensor deformación se puede aproximar en el límite de las deflexiones pequeñas mediante la siguiente expresión [7, 8]

$$\varepsilon_{ij} = \varepsilon_{ij}^0 - w_{,ij}z + \frac{1}{2}w_{,i}w_{,j} \quad (2.2)$$

donde ε_{ij}^0 hace referencia a la deformación inicial, y se ha adoptado la notación $u_k \equiv w$ para los desplazamientos en el eje vertical.

2.3.1. Incremento Energético Debido a la Deformación

La energía elástica de volumen se define como

$$U_B = \iiint_V dV \frac{1}{2} c_{ijkl} \varepsilon_{ij} \varepsilon_{kl} \quad (2.3)$$

donde c_{ijkl} es el tensor constante elástica. Utilizando la aproximación 2.2, tenemos que el incremento energético debido a una deformación arbitraria es igual a

$$U_B = \iint_A dA \left[D_{ijkl} w_{,ij} w_{,kl} + \bar{c}_{ijkl} w_{,k} w_{,l} \left(\varepsilon_{ij}^0 + \frac{1}{4} w_{,i} w_{,j} \right) \right] \quad (2.4)$$

donde se ha definido

$$\bar{c}_{ijkl} = \int c_{ijkl} dz \quad (2.5)$$

y el tensor rigidez se calcula como

$$D_{ijkl} = \int c_{ijkl} z^2 dz \quad (2.6)$$

El tensor rigidez es un tensor de cuarto orden en el espacio bidimensional. Es un tensor par, por lo que siempre se cumple que

$$D_{ijkl} = D_{kmij} = D_{ijmk} = D_{jikm} \quad (2.7)$$

Para materiales isotrópicos se cumple además que

$$\begin{aligned} D_{1111} &= D_{2222} = D \\ D_{1122} &= \nu D \\ D_{1212} &= (1 - \nu) D \end{aligned} \quad (2.8)$$

siendo todas las demás componentes del tensor cero.

Con el fin de lograr una mayor claridad en la exposición, vamos a separar esta energía en dos componentes

$$U_1 = \iint_A D_{ijkl} w_{,ij} w_{,kl} dA$$

$$U_2 = \frac{1}{2} \iint_A N_{ij} w_{,j} w_{,i} dA$$

donde $N_{ij} = \bar{c}_{ijkl} \left(\varepsilon_{ij}^0 + \frac{1}{4} w_{,k} w_{,l} \right)$. U_1 representa el cambio de energía debido a una deflexión vertical, mientras que U_2 corresponde a la energía de la deformación en el plano. Además, podemos añadir una tercera componente, y es el trabajo realizado por cargas transversales distribuidas a lo largo de la palanca, p ,

$$W = \iint_A p w dA$$

2.3.2. Ecuaciones Diferenciales de Equilibrio

Para calcular las ecuaciones diferenciales de equilibrio vamos a aplicar el principio variacional de los trabajos virtuales [3, 5], que dice que la variación de la resultante de todas las cargas debe ser cero, $\delta \Pi = 0$, siendo $\Pi = U_1 + U_2 + W$. Teniendo en cuenta las simetrías del tensor, ecuación 2.7, las variaciones son

$$\begin{aligned} \delta U_1 &= \iint_A D_{ijkl} w_{,ij} \delta w_{,kl} dA = \iint_A \left(D_{ijkl} w_{,ij} \delta w_{,k} \right)_{,l} dA - \iint_A \left(D_{ijkl} w_{,ij} \right)_{,l} \delta w_{,k} dA = \\ &= \iint_A \left(D_{ijkl} w_{,ij} \delta w_{,k} \right)_{,l} dA - \iint_A \left[\left(D_{ijkl} w_{,ij} \right)_{,l} \delta w \right]_{,k} dA + \iint_A \left(D_{ijkl} w_{,ij} \right)_{,kl} \delta w dA = \\ &= \int v_l D_{ijkl} w_{,ij} \delta w_{,k} ds - \int v_k D_{ijkl} w_{,ijl} \delta w ds + \iint_A D_{ijkl} w_{,ijkl} \delta w dA \end{aligned} \quad (2.9)$$

donde se ha utilizado el teorema de Gauss generalizado

$$\iint_A T_{ijk\dots,r} dA = \int T_{ijk\dots} v_r ds$$

siendo v_r los cosenos del ángulo formado por la normal \mathbf{v} con el eje x_r . Del mismo modo, tenemos que

$$\begin{aligned} \delta U_2 &= \frac{1}{2} \iint_A \left(N_{ij} w_{,i} \delta w_{,j} + N_{ij} w_{,j} \delta w_{,i} \right) dA = \iint_A N_{ij} w_{,i} \delta w_{,j} dA = \\ &= \iint_A \left(N_{ij} w_{,i} \delta w \right)_{,j} dA - \iint_A N_{ij} w_{,i} \delta w dA - \iint_A N_{ij} w_{,ij} \delta w dA = \\ &= \int v_j N_{ij} w_{,i} \delta w ds + \iint_A F_i w_{,i} \delta w dA - \iint_A N_{ij} w_{,ij} \delta w dA \end{aligned} \quad (2.10)$$

$$\delta W = \iint_A p \delta w dA \quad (2.11)$$

donde $F_i = -N_{ij,j}$ son las cargas distribuidas en el estado inicial.

A continuación se aplican las condiciones de equilibrio, $\delta\Pi=0$, usando para ello las ecuaciones 2.9 – 2.11, llegamos a la siguiente ecuación de equilibrio general

$$\iint_A (D_{ijk} w_{,ijk} - N_{ij} w_{,ij} + F_i w_{,i} - p) \delta w dA + \int (V_v^N + V_v^M) \delta w ds + \int M_k \delta w_{,k} ds = 0 \quad (2.12)$$

siendo $V_v^N = v_j N_{ij} w_{,i}$, $V_v^M = -v_k D_{ijk} w_{,ij}$ y $M_k = v_m D_{ijk} w_{,ij}$.

La ecuación 2.12 representa la ecuación de la deformación generalizada para un sólido rígido que, utilizando las condiciones de contorno apropiadas, podemos utilizar para describir el caso de una palanca. Podemos aproximar la expresión general 2.12 a un caso ideal, donde sólo tengamos la componente x de una palanca isotrópica sin fuerzas en el plano. En ese caso, utilizando las simplificaciones descritas en 2.8, tenemos que

$$D \frac{\partial^4 w(x,t)}{\partial x^4} - p = 0 \quad (2.13)$$

En el caso ideal de una palanca unidimensional (en la práctica consideraremos únicamente aquellas palancas cuya anchura es mucho menor que su longitud) sin ningún tipo de carga transversal adicional, siempre tendremos la presencia de la fuerza inercial debida a la vibración, en dirección opuesta a ésta, que es igual a la masa de la palanca multiplicada por su aceleración. Llegamos, por tanto, a la expresión más conocida de la ecuación de Euler–Bernouilli para la vibración flexural de una palanca

$$D \frac{\partial^4 w(x,t)}{\partial x^4} - \rho S \frac{\partial^2 w(x,t)}{\partial t^2} = 0 \quad (2.14)$$

donde ρ es la densidad de masa de la palanca y S la sección transversal.

2.4. RESOLUCIÓN DE LA ECUACIÓN DE EULER-BERNOUILLI

A continuación se va a proceder a resolver la ecuación de Euler–Bernouilli en el caso más sencillo posible, ecuación 2.14. Esta ecuación se puede resolver de muchas formas diferentes [1, 2]. Nosotros optaremos por resolver primero la transformada de Fourier de la ecuación de Euler. Reorganizando la expresión tenemos

$$D \frac{\partial^4 \psi(x, \omega)}{\partial x^4} + \rho S (i\omega)^2 \psi(x, \omega) = D \frac{\partial^4 \psi(x, \omega)}{\partial x^4} - \rho S \omega^2 \psi(x, \omega) = 0$$

Esta ecuación tendrá como solución general

$$\psi(x, \omega) = C_1 \cosh kx + C_2 \sinh kx + C_3 \cos kx + C_4 \sin kx$$

Ahora tenemos que fijar las constantes de integración a partir de las condiciones de contorno. En el caso de una palanca con un extremo libre basta con fijar cuatro condiciones de contorno: la deflexión del extremo fijo es cero; la pendiente de la

palanca entorno al extremo fijo es cero; tanto la curvatura, derivada segunda en función de la posición, como la derivada tercera de la deflexión en función de la posición son nulas en el extremo libre de la palanca. Lo que se traduce en,

$$\psi(0) = \frac{\partial \psi}{\partial x}(0) = 0$$

$$\frac{\partial^2 \psi}{\partial x^2}(L) = \frac{\partial^3 \psi}{\partial x^3}(L) = 0$$

La imposición de estas condiciones de contorno lleva asociada una indeterminación, por lo que debe satisfacerse la siguiente igualdad [3, 9]

$$1 + \cosh k_n L \cos k_n L = 0 \quad (2.15)$$

Las soluciones de esta ecuación dan lugar a los diferentes autovalores que constituyen cada uno de los modos de vibración de la palanca. Para los primeros modos estos autovalores adoptan los siguientes valores $k_n L = 2.875, 4.694, 7.855, 10.966, \dots$. Para modos altos de vibración los autovalores se pueden aproximar por su valor asintótico

$$k_n \approx \left(n - \frac{1}{2}\right)\pi$$

siendo n el número del modo al que se hace referencia.

Dando un valor a una de las constantes, por ejemplo $C_4=1$, llegamos a la solución espacial de la ecuación de Euler, que nos da la forma de vibración de los diferentes modos [1]

$$\psi(x) = A_n \left[\sin k_n x - \sinh k_n x + \frac{\cosh k_n L + \cos k_n L}{\sin k_n L - \sinh k_n L} (\cos k_n x - \cosh k_n x) \right] \quad (2.16)$$

donde A_n es la amplitud de oscilación, que normalmente aparece normalizada. Por motivos históricos esta normalización se hace a 2 en la amplitud de oscilación del extremo libre, en estas condiciones, para los primeros modos de vibración la amplitud toma los siguientes valores $A_n = 0.7341, 2.0184, 2.000, 2.000, \dots$

En la siguiente gráfica, figura 2.2, representamos los tres primeros modos de oscilación de una palanca.

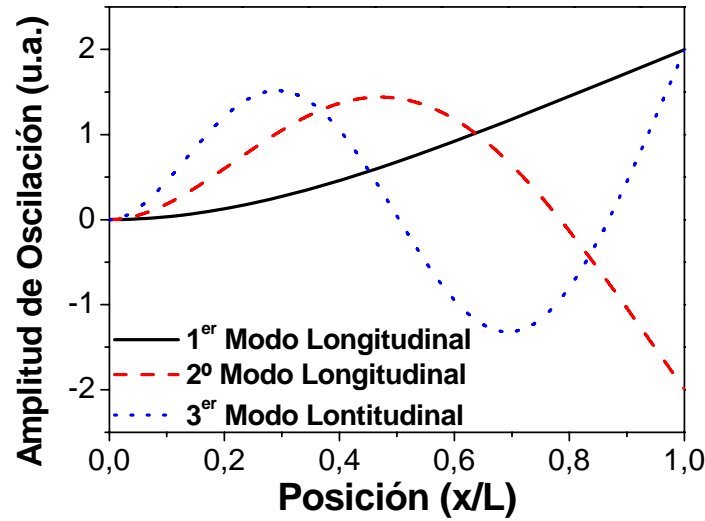


Figura 2.2. Amplitud de oscilación en función de la posición normalizada a lo largo de la palanca para los tres primeros modos de oscilación, líneas negra, roja y azul para el primero, segundo y tercer modo respectivamente. Tanto la posición como la amplitud de oscilación aparecen normalizadas.

La resolución de la parte temporal es inmediata definiendo $\alpha_n = k_n L$, por tanto,

$$\frac{\alpha_n^4}{L^4} = \frac{1}{D} \omega_n^2 \rho S$$

Y la frecuencia de resonancia vendrá dada por

$$\omega_n = \frac{\alpha_n^2}{L^2} \sqrt{\frac{D}{\rho S}} \quad (2.17)$$

2.5. EFECTOS DISIPATIVOS

El modelo de Euler-Bernouilli, ecuación 2.14 no incluye efectos de disipación de energía. No obstante, la gran ventaja de este modelo es que, tal y como hemos visto en la expresión general de la energía potencial, ecuación 2.4, podemos añadir diferentes términos a la expresión para completar el modelo. Con el fin de describir de forma más precisa el movimiento de la palanca en un medio gaseoso o líquido debemos incluir una fuerza de arrastre o rozamiento viscoso, que adopta la siguiente forma [10]

$$f_1 \frac{\partial w(x,t)}{\partial t} + f_2 \frac{\partial^2 w(x,t)}{\partial t^2}$$

El primer término en la expresión anterior, f_1 , hace referencia al retraso en la respuesta de la palanca originado por el amortiguamiento que produce el rozamiento

viscoso. El segundo término representa la fuerza inercial adicional debida a la masa añadida por el fluido. El origen de esta masa añadida se encuentra en el desplazamiento de la columna de fluido sobre la palanca en su movimiento de oscilación. Introduciendo esta fuerza la ecuación de movimiento queda de la siguiente manera

$$D \frac{\partial^4 w(x,t)}{\partial x^4} + f_1 \frac{\partial w(x,t)}{\partial t} + (\rho S + f_2) \frac{\partial^2 w(x,t)}{\partial t^2} = 0 \quad (2.18)$$

La parte espacial de la ecuación no experimenta ningún cambio, por lo que la forma de los modos de vibración permanece inalterada. Sin embargo, la parte temporal tiene dos nuevos términos, por lo que la frecuencia de resonancia se calcula ahora como [10],

$$\omega_n = \frac{1}{2(\rho S + f_2)} \left[i f_1 \pm \sqrt{-f_1^2 + 4(\rho S + f_2) \frac{\alpha_n^4 D}{L^4}} \right] \quad (2.19)$$

donde i es la unidad imaginaria $i^2 = -1$, que, como vemos está únicamente circunscrita al término que introduce el retardo en la respuesta temporal de la palanca.

2.6. VIBRACIÓN ASISTIDA POR UNA FUERZA VARIABLE EN EL TIEMPO

La ecuación de movimiento más general además de incluir los efectos disipativos, expresión 2.18, puede contener el efecto de una fuerza variable con el tiempo uniforme a lo largo de toda la palanca,

$$D \frac{\partial^4 w(x,t)}{\partial x^4} + f_1 \frac{\partial w(x,t)}{\partial t} + (\rho S + f_2) \frac{\partial^2 w(x,t)}{\partial t^2} = \frac{F_0}{L} e^{i\omega t} \quad (2.20)$$

De nuevo la parte espacial no ha cambiado respecto al caso de la palanca vibrando en un medio sin disipación, ecuación 2.14. La parte temporal se resuelve por integración por partes, utilizando la solución de la ecuación homogénea 2.19. En este caso, la amplitud de oscilación en el extremo libre de la palanca es

$$\chi(L, \omega) = \frac{1}{\omega_{nd}^2 - \omega^2 + 2i\xi_n \omega_{nd} \omega} \frac{F_0 e^{i\omega t}}{L(\rho S + f_2)} \quad (2.21)$$

donde se ha definido

$$\xi_n = \frac{f_1}{2(\rho S + f_2) \omega_{nd}}$$

y ω_{nd} es la frecuencia de resonancia en un fluido sin tener en cuenta los efectos disipativos pero sí la masa inercial añadida, es decir, combinando las expresiones 2.17 y 2.19,

$$\omega_{nd} = \frac{\alpha_n^2}{L^2} \sqrt{\frac{D}{(\rho S + f_2)}}$$

2.7. OSCILADOR ARMÓNICO AMORTIGUADO FORZADO

El oscilador armónico es un modelo sencillo, que se aplica en multitud de campos de la física y que proporciona una buena aproximación del comportamiento oscilatorio de la palanca. Este modelo supone simplificar el comportamiento de la palanca al de un muelle con una masa en uno de los extremos, estando fijo el otro. Tradicionalmente este modelo ha servido para introducir conceptos muy utilizados en el campo como son la constante elástica y el factor de calidad, que, como hemos visto, no se han mencionado hasta ahora. La frecuencia natural de oscilación de una masa m sujeta a un muelle con una constante elástica k se calcula como

$$\omega_0 = \sqrt{\frac{k}{m}}$$

Si introducimos en la ecuación efectos disipativos a través de una constante de rozamiento γ y una fuerza de excitación que dependa armónicamente con el tiempo, tenemos que la ecuación completa de movimiento es

$$m_{eff} \frac{d^2 w}{dt^2} + \gamma \frac{dw}{dt} + kw = F_0 \cos \omega t \quad (2.22)$$

donde m_{eff} es una masa efectiva que se calcula teniendo en cuenta que la masa de la palanca está distribuida de forma homogénea a lo largo de toda su extensión y la forma del modo de vibración, es decir, la amplitud de oscilación aumenta desde el extremo fijo, con lo que debe existir un parámetro geométrico para tener en cuenta la variación con el modelo del oscilador, donde la toda masa se supone en el extremo libre oscilando con la misma amplitud [10, 11].

Se define el factor de calidad como el cociente entre la energía vibracional almacenada y la energía disipada por cada ciclo de oscilación [12]. La energía vibracional almacenada es igual al valor máximo de la energía cinética, mientras que la energía disipada por periodo está dada por el producto de la parte disipativa de la fuerza de arrastre y la velocidad. Ambas energías pueden calcularse por separación de variables, para un periodo dado, obteniéndose una expresión para el factor de calidad en función de la constante de rozamiento

$$Q = \frac{m_{eff}}{\gamma} \omega_0 \quad (2.23)$$

En la siguiente simulación, figura 2.3, podemos ver el efecto que tiene sobre un pico de resonancia la variación del factor de calidad. En línea negra podemos ver una resonancia a 6kHz con un factor de calidad igual a 5, la línea roja muestra la misma resonancia con un factor de calidad igual a 10 y la línea azul el mismo pico con un factor de calidad de 20.

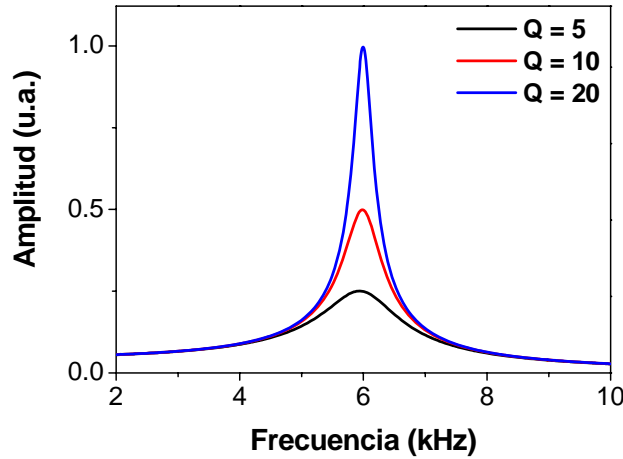


Figura 2.3. Simulación teórica de tres picos de resonancia con la misma frecuencia y diferente factor de calidad ($Q = 5$, curva negra), ($Q = 10$, curva roja) y ($Q = 20$, curva azul).

En la figura 2.3 se puede observar que cuanto mayor sea el factor de calidad, más estrecho es el pico de resonancia. De este modo, se puede calcular gráficamente el factor de calidad como [13, 14]

$$Q = \sqrt{3} \frac{\omega_0}{\Delta\omega_{1/2}}$$

siendo $\Delta\omega_{1/2}$ la anchura del pico a la mitad de la altura del mismo.

La ecuación homogénea queda entonces como

$$m_{eff} \frac{d^2 w}{dt^2} + \gamma \frac{dw}{dt} + kw = \frac{d^2 w}{dt^2} + \frac{\gamma}{m_{eff}} \frac{dw}{dt} + \frac{k}{m_{eff}} w = \frac{d^2 w}{dt^2} + \frac{\omega_0}{Q} \frac{dw}{dt} + \omega_0^2 w = 0$$

Los autovalores correspondientes a esta ecuación son

$$\lambda = \frac{1}{2} \left[-\frac{\omega_0}{Q} \pm \sqrt{\left(\frac{\omega_0}{Q}\right)^2 - 4\omega_0^2} \right]$$

La forma de las soluciones de la ecuación de movimiento 2.22 depende de la naturaleza de los autovalores, que se pueden clasificar en función de los valores que adopte el factor de calidad, dando como resultado diferentes tipos de amortiguamientos.

Todos los osciladores reales están sometidos a algún tipo de fricción. Las fuerzas de fricción son disipativas y el trabajo que realizan es transformado en calor que es conducido hacia el exterior del sistema. Como consecuencia, el movimiento está amortiguado, salvo que alguna fuerza externa lo mantenga. Si el amortiguamiento es mayor que cierto valor crítico, el sistema no oscila, sino que regresa a la posición de

equilibrio. La rapidez con la que se produce este regreso depende de la magnitud del amortiguamiento, pudiéndose dar dos casos distintos: el sobreamortiguamiento y el movimiento críticamente amortiguado. Cuando el amortiguamiento no supera este valor crítico el sistema realiza un movimiento ligeramente amortiguado, semejante al movimiento armónico simple, pero con una amplitud que disminuye exponencialmente con el tiempo.

2.7.1. Movimiento críticamente amortiguado

Se alcanza para factores de calidad $Q = 1/2$. En este caso tenemos un autovalor doble real, por tanto, la solución de la parte espacial adopta la siguiente forma

$$w = (C_1 + C_2 t) e^{-\frac{1}{2} \frac{\omega_0}{Q} t} \quad (2.24)$$

2.7.2. Sobreamortiguamiento

Para factores de calidad $Q < 1/2$. En este caso tenemos dos autovalores reales diferentes, por tanto, la solución espacial adopta la siguiente forma

$$w = C_1 e^{-\frac{1}{2} \omega_0 \left[\frac{-1}{Q} + \sqrt{\frac{1}{Q^2} - 4} \right]} + C_2 e^{-\frac{1}{2} \omega_0 \left[\frac{-1}{Q} - \sqrt{\frac{1}{Q^2} - 4} \right]} \quad (2.25)$$

En este caso la amplitud de oscilación en función del tiempo cae de forma exponencial, tal y como se puede observar en la figura 2.4.

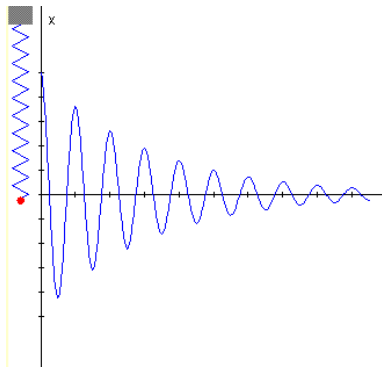


Figura 2. 4. Amplitud de oscilación en función de l tiempo p ara el cas o de un movimiento sobreamortiguado.

2.7.3. Oscilaciones amortiguadas

Para factores de calidad $Q > 1/2$. En este caso tenemos dos autovalores complejos diferentes, por tanto, la solución espacial es

$$w = \left[C_1 \cos \left(\sqrt{\left| \frac{1}{Q^2} - 4 \right|} \omega_0 t \right) + C_2 \sin \left(\sqrt{\left| \frac{1}{Q^2} - 4 \right|} \omega_0 t \right) \right] e^{\frac{1}{2} \frac{\omega_0}{Q} t} \quad (2.25)$$

La ecuación inhomogénea 2.22 se puede resolver utilizando el método de *variación de constantes*, para lo cual necesitamos conocer el determinante wronskiano del problema, o a partir del método de *coeficientes indeterminados*. Ambos métodos dan como resultado la siguiente amplitud de oscilación

$$x_p = \frac{F_0 / m_{eff}}{\left[(\omega_0^2 - \omega^2) + \frac{1}{(\omega_0^2 - \omega^2)} \left(\frac{\omega_0 \omega}{Q} \right)^2 \right]} \cos \omega t + \frac{F_0 / m_{eff}}{\left[(\omega_0^2 - \omega^2) + \frac{1}{(\omega_0^2 - \omega^2)} \left(\frac{\omega_0 \omega}{Q} \right)^2 \right]} \left(\omega_0^2 - \omega^2 \right) \frac{\omega_0 \omega}{Q} \sin \omega t$$

En el caso de que la fuerza de excitación sea armónica,

$$f(t) = \frac{F_0}{m_{eff}} e^{i\omega t}$$

la solución anterior se simplifica y la amplitud de oscilación en función del tiempo se calcula como

$$x_p = \frac{F_0 / m_{eff}}{\left[(\omega_0^2 - \omega^2) + \frac{i\omega_0 \omega}{Q} \right]} e^{i\omega t} \quad (2.26)$$

La ecuación 2.26 representa lo que se conoce en la literatura como aproximación del oscilador armónico. Comparando la ecuación resultante para la ecuación de Euler – Bernoulli cuando incluimos términos disipativos, ecuación 2.21, con la expresión obtenida para el oscilador armónico, ecuación 2.26, vemos que realmente la forma de la ecuación es la misma en ambos casos. Tenemos entonces que el oscilador armónico describe perfectamente el comportamiento de cada modo de vibración individual de la palanca, tal y como se puede apreciar en la siguiente figura, figura 2.6. Sin embargo, la validez de este modelo queda en entredicho cuando introducimos el efecto de la geometría del resonador o cuando queremos predecir la frecuencia de resonancia de los modos de vibración superiores de la palanca.

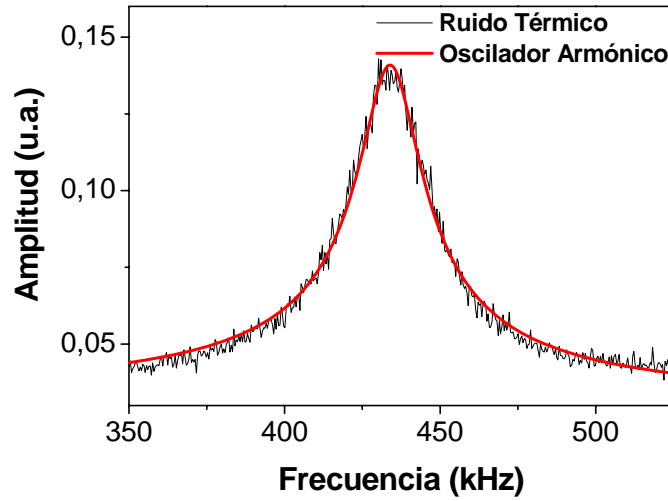


Figura 2. 6. Medida experimental de la amplitud de oscilación de una palanca en función de la frecuencia y su ajuste a la aproximación del oscilador armónico (curva roja).

Identificando términos entre el modelo del oscilador armónico y la ecuación completa de Euler–Bernoulli, ecuaciones 2.21 y 2.26, vemos que podemos utilizar el modelo del oscilador sin pérdida de generalidad siempre y cuando utilicemos un valor efectivo para la masa y el factor de calidad de la palanca. Nótese que el concepto de factor de calidad no aparece en la teoría de Euler–Bernoulli y se introduce como analogía con el oscilador armónico

$$m_{eff} = \frac{1}{\int_0^L w_n(x) dx} (\rho S + L f_2) \quad (2.27)$$

$$Q = \frac{1}{2\xi_n} = \frac{(\rho S + f_2)}{f_1} \omega_{nd} \quad (2.28)$$

Tal y como se desprende de la ecuación para la masa efectiva, ecuación 2.27, la masa efectiva que debemos utilizar en el modelo del oscilador armónico para simular los resultados experimentales depende del modo de vibración [15, 16]. En el caso del primer modo esta masa efectiva será 0.247, pero para el resto de modos es diferente [17, 18].

2.8. RUIDO TERMOMECAÁNICO

Los sistemas que disipan energía son necesariamente fuentes de ruido, entendiendo como fuente de ruido aquel sistema cuyas variables fluctúan [19]. Esta es la base sobre la que se asienta el principio de fluctuación–disipación. Este teorema se aplica a resonadores nanomecánicos que tienen una disipación distinta de cero, es decir, que tienen un factor de calidad finito [12]. Por lo tanto, los resonadores nanomecánicos deben ser considerados como una fuente de ruido, pero su naturaleza resonante hace que

la densidad espectral de ruido tome un valor, en cierto sentido, diferente, denominado “ruido coloreado” en oposición al ruido blanco. Se define la densidad espectral de una señal como una función matemática que nos proporciona información acerca de cómo está distribuida la potencia o energía de dicha señal sobre las distintas frecuencias sobre las que está formada, es decir, su espectro. La densidad espectral de una variable $X(\omega)$ se puede calcular como

$$S_X(\omega) = \int_{-\infty}^{+\infty} |X(\omega)|^2 d\omega$$

En toda la deducción posterior vamos a trabajar en el límite de altas temperaturas, es decir, $k_B T \gg \hbar\omega$, donde k_B es la constante de Boltzmann y T la temperatura del medio que rodea al resonador. Cuando se cumple que $k_B T \sim \hbar\omega$ entramos en el rango de lo que se ha venido a denominar en los últimos años nanomecánica cuántica, una rama de la física que todavía se encuentra en fase de desarrollo [20]. Se trata de un campo muy activo en el que los esfuerzos están centrados en bajar la temperatura de la palanca hasta entrar en el rango cuántico [21, 22].

El desplazamiento vertical de una palanca forzada en un medio disipativo viene dado por la expresión 2.21. Identificando valores, esta expresión se puede escribir en términos del factor de calidad, definido en la aproximación del oscilador armónico, ecuación 2.28

$$\chi(L, \omega) = \frac{1}{\omega_{nd}^2 - \omega^2 + i \frac{\omega_{nd}\omega}{Q}} \frac{F_0(x, \omega)}{L(\rho S + f_2)}$$

Tal y como se ha mencionado anteriormente, el valor finito del factor de calidad y la temperatura implica la presencia de ruido, por el teorema de fluctuación – disipación. Independientemente del mecanismo de disipación de energía, el ruido actúa como una termalización del movimiento del resonador. Por lo tanto, en presencia únicamente de la disipación, sin fuerza de excitación, la energía media para cada modo vendrá dada por $\langle E_n \rangle = k_B T$ [23].

El proceso la termalización sucede debido a la presencia de un ruido en la fuerza que excita la palanca, $f_N(x, t)$, por unidad de longitud en la viga. Cada punto de la palanca experimenta un ruido en la fuerza con la misma densidad espectral, pero fluctuando de manera independiente al resto de puntos. El ruido, por tanto, entre dos puntos vecinos no está correlacionado. Podemos escribir este ruido como una expansión en términos de las autofunciones 2.16,

$$f_N(x, t) = \frac{1}{L} \sum_{n=1}^{\infty} f_{N_n}(t) \psi_n(x)$$

donde la fuerza f_{N_n} asociada con el modo n no está relacionada en forma alguna con el resto de modos. El factor $1/L$ aparece como consecuencia de la normalización de las autofunciones.

El ruido en la fuerza tiene una densidad espectral igualmente distribuida en todas las frecuencias, lo que comúnmente se denomina ruido blanco, y una distribución

gaussiana de valor medio cero. La magnitud de la densidad espectral se puede evaluar imponiendo que se alcanza el equilibrio térmico para cada modo n . La densidad espectral de ruido para la amplitud de la palanca oscilando excitada mediante el ruido térmico para el n -ésimo modo de vibración viene dada por [24]

$$S_{a_n} = \frac{1}{\left(\omega_{nd}^2 - \omega^2\right)^2 + \left(\frac{\omega_{nd}\omega}{Q}\right)^2} \frac{S_{f_n}(\omega)}{[L(\rho S + f_2)]^2} \quad (2.29)$$

En unidades del Sistema Internacional, $S_{f_n}(\omega)$ tiene unidades de $(N/m)^2/(rad/s)=kg^2/(s^3 rad)$, y las unidades de S_{a_n} son $1/(rad/s)$.

La energía cinética del modo n con una densidad espectral S_{a_n} viene dada por

$$\langle K \rangle = \frac{1}{2} \int_0^\infty \int_0^L \rho S \omega^2 S_{a_n}(\omega) \psi_n^2(x) dx d\omega = \frac{1}{2} \int_0^\infty \rho S L^3 \omega^2 S_{a_n}(\omega) d\omega \approx \frac{\pi Q L^2}{4 \omega_{nd}} \frac{S_{f_n}(\omega)}{L(\rho S + f_2)}$$

donde la última aproximación se convierte en igualdad en el límite en el que $Q^{-1} \rightarrow 0$.

Como debemos alcanzar el equilibrio térmico, la energía cinética debe ser igual a $\langle K \rangle = \frac{1}{2} k_B T$, por lo tanto, la densidad espectral $S_{f_n}(\omega)$ se puede escribir como,

$$S_{f_n}(\omega) = \frac{2k_B T (\rho S + f_2) \omega_{nd}}{\pi Q L} \quad (2.30)$$

De este modo, teniendo en cuenta las expresiones 2.29 y 2.30, la densidad espectral de la amplitud térmicamente excitada se puede escribir como

$$S_{a_n} = \frac{\omega_{nd}}{\left(\omega_{nd}^2 - \omega^2\right)^2 + \left(\frac{\omega_{nd}\omega}{Q}\right)^2} \frac{2k_B T}{\pi Q L^2 (\rho S + f_2)} \quad (2.31)$$

Tal y como se puede apreciar, esta ecuación es formalmente idéntica a la amplitud de oscilación descrita dentro de la aproximación del oscilador armónico, ecuación 2.26, y a la solución de la ecuación de movimiento de Euler, ecuación 2.21, lo que explica el buen grado de ajuste que hay entre la curva experimental del ruido termomecánico de la palanca y la curva del oscilador armónico, figura 2.6.

2.8.1. Ruido en Frecuencia

La mejora en las técnicas microelectrónicas y el abaratamiento de costes ha propiciado que en los últimos años haya una tendencia a la reducción del tamaño de los dispositivos. La reducción de tamaño lleva consigo el aumento de la frecuencia de resonancia. Sin embargo, la estabilidad del resonador a altas frecuencias se ve limitada por diversas fuentes de ruido fundamentales [25].

El ruido en los sensores nanomecánicos se puede dividir en dos partes: el ruido intrínseco al dispositivo y todos aquellos procesos relacionados con el intercambio de energía con el medio o la forma de medir la frecuencia de resonancia. Estas fuentes de ruido extrínsecas incluyen términos como el ruido Johnson, proveniente de la electrónica que se utiliza para la adquisición de la señal; el ruido que provoca la adsorción y desorción de moléculas de gas sobre la superficie del dispositivo; y fluctuaciones térmicas, debidas a la capacidad calorífica finita del resonador.

Nos centraremos, sin embargo, en el ruido termomecánico, causado por los mecanismos de disipación energética en el interior de la palanca, ya que constituye el límite fundamental en la utilización de este tipo de sensores.

Cuando una palanca se encuentra en equilibrio térmico con el medio que la rodea, lo que se conoce comúnmente como “baño térmico” hay un intercambio continuo entre la energía mecánica almacenada en el dispositivo y la energía térmica del medio. Tal y como se ha mostrado en la sección 3 del presente capítulo, este intercambio está bien descrito por el teorema de fluctuación–disipación y da como resultado la oscilación espontánea de la micropalanca, de tal modo que el promedio de la energía mecánica por cada modo de oscilación está definido por $k_B T$.

A frecuencias por debajo de la frecuencia de resonancia, la amplitud de las oscilaciones inducidas térmicamente es proporcional a la raíz cuadrada de la energía térmica y se puede expresar como

$$\langle \delta w^2 \rangle^{1/2} = \sqrt{\frac{2k_B T B}{\pi k \omega_0 Q}} \quad (2.32)$$

donde B es el ancho de banda de la medida. De esta expresión se puede deducir que la amplitud de las oscilaciones es mayor cuanto menor sea la rigidez de la viga.

Como resultado del intercambio dinámico entre la energía mecánica y la energía térmica del medio que rodea la palanca, la auténtica frecuencia de la palanca, ω , de las oscilaciones excitadas termomecánicamente en un momento dado se puede desviar de forma notable de la frecuencia de resonancia propia de la palanca, ω_0 . A continuación vamos a calcular la amplitud de estas fluctuaciones de la frecuencia [26]

De acuerdo con el teorema de la equipartición [12], la energía térmica y la energía mecánica de la palanca están relacionadas por

$$\frac{1}{2} m \omega_0^2 \langle w^2 \rangle = \frac{1}{2} k_B T$$

donde $\langle w^2 \rangle$ es el desplazamiento cuadrático medio del extremo libre de la palanca debido a la excitación de las fuerzas térmicas. La densidad espectral de ruido S_{a_n} , ecuación 2.31, y $\langle w^2 \rangle$ están relacionadas mediante la siguiente expresión,

$$\langle w^2 \rangle = \frac{1}{2\pi} \int_0^\infty S_{a_n}(\omega) d\omega \quad (2.33)$$

Si se ignoran las componentes del ruido con una modulación en frecuencia del orden del ancho de banda del oscilador, o menores, podemos llegar a una expresión

aproximada de la densidad espectral de ruido en cada frecuencia en términos de la modulación de la frecuencia $\omega_0 - \omega$,

$$S_{a_n}(\omega_0 - \omega) = \frac{k_B T}{m \omega_0 Q (\omega_0 - \omega)^2}$$

Esta expresión es válida para valores de la modulación $\omega_0 - \omega \gg \omega_0/2Q$. El ruido en la energía de fase viene dado por [27]

$$E_P(\omega_0 - \omega) = \frac{1}{2} k S_{a_n}(\omega_0 - \omega)$$

y el valor cuadrático medio de la modulación de la frecuencia debido a las fuentes de ruido se calcula como

$$\langle \delta \omega^2 \rangle = \frac{1}{2\pi} \int_{\omega_0 - \omega} \frac{2E_P(\omega_0 - \omega)}{E_c} (\omega_0 - \omega)^2 d(\omega_0 - \omega) \quad (2.34)$$

donde E_c es la energía del oscilador calculada como $E_c = k \langle w_{max}^2 \rangle$. Integrando la ecuación 2.34 sobre todo el ancho de banda de la medida, llegamos a

$$\delta \omega_0 = \frac{1}{w_{max}} \sqrt{\frac{2\pi \omega_0 k_B T B}{k Q}} \quad (2.35)$$

donde w_{max} es la amplitud de la oscilación en el extremo libre. Esta ecuación predice un aumento absoluto de las fluctuaciones de la frecuencia de resonancia cuando dicha frecuencia aumenta. Sin embargo, la inestabilidad relativa decrece en el caso de osciladores con frecuencias de resonancia altas

$$\frac{\delta \omega_0}{\omega_0} = \frac{1}{w_{max}} \sqrt{\frac{2\pi k_B T B}{k Q \omega_0}} \quad (2.36)$$

Pese a que las ecuaciones 2.32 y 2.36 son válidas para palancas excitadas térmicamente, se pueden utilizar también para evaluar los efectos del ruido termomecánico sobre la inestabilidad de la frecuencia para cualquier palanca excitada por una fuerza externa, analizaremos este punto en detalle en el Capítulo 3. Como aplicación directa a los sensores nanomecánicos operados en el modo dinámico, se puede extraer de las ecuaciones 2.35 y 2.36 que la inestabilidad intrínseca debida a los efectos del ruido térmico se puede minimizar haciendo oscilar a la palanca con la mayor amplitud posible.

2.9. RESOLUCIÓN DE LA MEDIDA DE FRECUENCIA DE RESONANCIA

Además del ruido intrínseco en la frecuencia, la resolución de la medida depende del factor de calidad del pico de frecuencia. Para determinar la variación de la frecuencia de resonancia existen principalmente dos métodos de medida. El primero es determinar el máximo de la curva en función del tiempo, lo que nos daría una medida directa de la resonancia. El segundo método está más extendido en el campo de la microscopía de fuerzas atómicas y consiste en excitar la palanca a una frecuencia determinada, ligeramente fuera de la resonancia propia de la palanca y ver como cambia la amplitud. Es lo que comúnmente se denomina método de “detección de la pendiente”. Ambos métodos se ilustran esquemáticamente en la figura 2.7.

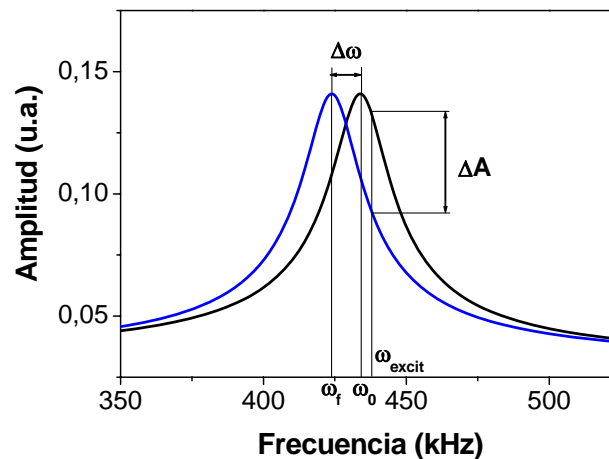


Figura 2.7. Esquema ilustrativo de las dos técnicas más ampliamente extendidas para determinar el cambio en la frecuencia de resonancia: evaluar el cambio en la posición del máximo de la curva y el cambio en la amplitud de una frecuencia excitada fuera de la frecuencia de resonancia.

Tal y como se puede apreciar en la figura 2.7, podemos relacionar la variación de amplitud, ΔA , con la variación en frecuencia, $\Delta \omega$. Ambas medidas mejoran aumentando el factor de calidad. A continuación se va a proceder a explicar este hecho en profundidad.

Resulta obvio que la variación en la amplitud aumenta cuanto mayor sea la pendiente en la zona de la curva de resonancia implicada, tal y como puede deducirse de la siguiente figura, figura 2.8, donde se ha representado una variación de frecuencia para un pico de resonancia con un factor de calidad de 5, y otro con un factor de calidad de 20. Las amplitudes han sido normalizadas para observar más claramente el efecto del diferente factor de calidad sobre la resolución en la medida del cambio de frecuencia de resonancia.

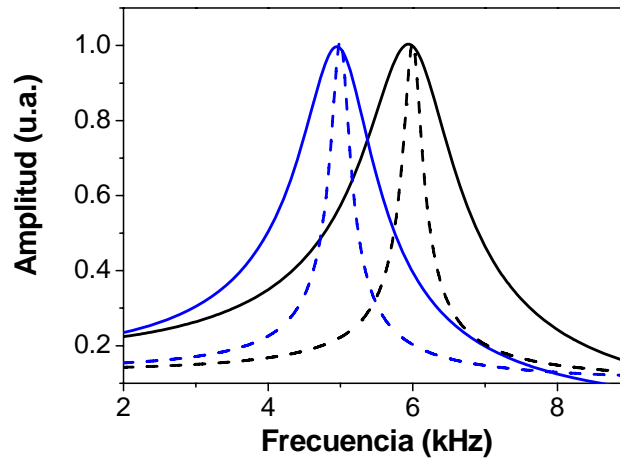


Figura 2.8. Variación de frecuencia de resonancia de un pico con un factor de calidad igual a 5 (línea continua) y otro con un factor de calidad cuatro veces más grande (línea discontinua).

En el Capítulo 3 entraremos en profundidad en el análisis del efecto del factor de calidad en la resolución en frecuencias, no obstante podemos dar un punto de vista cualitativo basándonos en criterios ópticos. El caso de la relación entre el factor de calidad y la variación en frecuencia es un poco más sutil, ya que no varía la magnitud del cambio en la frecuencia. Con el fin de estudiar este efecto recurrimos al criterio de Rayleigh acerca de la resolución óptica, donde se define la distancia de separación mínima para dos puntos representados por haces gaussianos para que se puedan resolver óptimamente

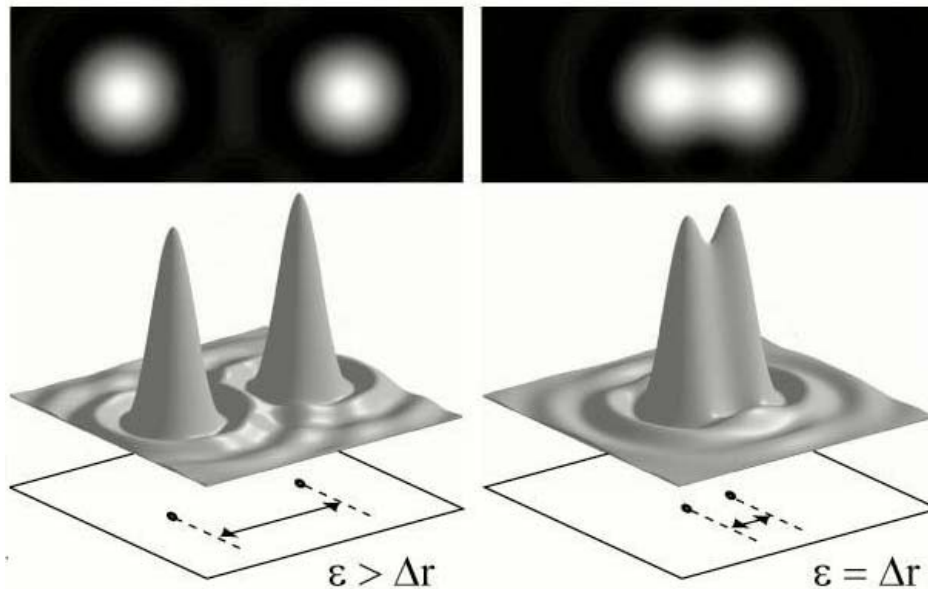


Figura 2.9. Diferencias entre la resolución de dos superficies gaussianas separadas la misma distancia pero variando su anchura.

En la figura anterior, figura 2.9, podemos ver que los puntos se están bien resueltos para separaciones ϵ mayores que la anchura a media altura del pico, Δr . Sin embargo, para separaciones del orden de la anchura es difícil calcular la separación entre dichos puntos. Podemos aplicar este criterio entonces para el caso de la separación

en frecuencia, fig. 2.8, donde se puede apreciar con mayor claridad el desplazamiento en frecuencia de los picos con la línea discontinua, que corresponden a los de mayor factor de calidad.

REFERENCIAS

1. S. Rast, C. Wattinger, U. Gysin, E. Meyer “Dynamics of damped cantilevers” *Rev. Sci. Instrum.* **71**, 2772 (2000).
2. L. Landau, E. Lifshitz “Theory of Elasticity” Ed. Pergamon, Oxford, (1986).
3. H. Chena, S. Mukherjeea, N. Alurub “Charge distribution on thin semiconducting silicon nanowires” *Comput. Methods Appl. Mech. Engrg.* **197**, 3366 (2008).
4. Z. P. Bazant, L. Cedolin “Stability of structures: Elastic, Inelastic, Fracture and Damage Theories” Dover Publications, Dover (2003).
5. Y. Zhang, Y. – P. Zhao “Applicability range of Stoney’s formula and modified formulas for a film/substrate bilayer” *J. Appl. Phys.* **99**, 053513 (2006).
6. Ch. – H. Hsueh “Modeling of elastic deformation of multilayers due to residual stresses and external bending” *J. Appl. Phys.* **91**, 9652 (2002).
7. J. E. Sader “Surface stress induced deflections of cantilever plates with applications to the atomic force microscope: Rectangular plates” *J. Appl. Phys.* **89**, 2911 (2001).
8. Y. Yang, Q. Ren, Y. – P. Zhao “Modelling analysis of surface stress on a rectangular cantilever beam” *J. Phys. D: Appl. Phys.* **37**, 2140 (2004).
9. R. W. Clough, J. Penzien “Dynamics of Structures” Ed. McGraw–Hill, New York (1975).
10. J. E. Sader “Frequency response of cantilever beams immersed in viscous fluids with applications to the atomic force microscope” *J. Appl. Phys.* **84**, 64 (1998).
11. J. E. Sader, S. P. Jarvis “Coupling of conservative and dissipative forces in frequency-modulation atomic force microscopy” *Phys. Rev. B* **74**, 195424 (2006).
12. O. Arcizet, P. – F. Cohadon, T. Briant, M. Pinard, A. Heidmann “Radiation-pressure cooling and optomechanical instability of a micromirror” *Nature (London)* **444**, 71 (2006).
13. J. Tamayo “Study of the noise of micromechanical oscillators under quality factor enhancement via driving force control” *J. Appl. Phys.* **97**, 044903 (2005).
14. F. R. Blom, S. Bouwstra, M. Elwenspoek, J. H. J. Fluitman “Dependence of the quality factor of micromachined silicon beam resonators on pressure and geometry” *J. Vac. Sci. Technol.* **10**, 38 (1992).
15. J. W. Rayleigh “The theory of sound” Ed. Dover, New York (1945).
16. D. Sarid “Scanning Force Microscopy” Ed. Oxford University Press (1994).
17. J. E. Sader, J. W. M. Chon, P. Mulvaney “Calibration of rectangular atomic force microscope cantilevers” *Rev. Sci. Instrum.* **70**, 3967 (1999).
18. J. E. Sader, I. Larson, P. Mulvaney, L. R. White “Method for the calibration of atomic force microscope cantilevers” *Rev. Sci. Instrum.* **66**, 3789 (1995).
19. A. N. Cleland, M. L. Roukes “Noise processes in nanomechanical resonators” *J. Appl. Phys.* **92**, 2758 (2002).

20. P. Mohanty “Quantum nanomechanics” arXiv:0802.4116.
21. M. Poggio, C. L. Degen, H. J. Mamin, D. Rugar “Feedback Cooling of a Cantilever's Fundamental Mode below 5 mK” *Phys. Rev. Lett.* **99**, 017201 (2007).
22. F. Marquardt, J. P. Chen, A. A. Clerk, S. M. Girvin “Quantum Theory of Cavity-Assisted Sideband Cooling of Mechanical Motion” *Phys. Rev. Lett.* **99**, 093902 (2007).
23. A. N. Cleland “Thermomechanical noise limits on parametric sensing with nanomechanical resonators” *New J. Phys.* **7**, 235 (2005).
24. K. L. Ekinci, M. L. Roukes “Nanoelectromechanical systems” *Rev. Sci. Instrum.* **76**, 061101 (2005).
25. K. L. Ekinci, X. M. H. Huang, M. L. Roukes “Ultrasensitive nanoelectromechanical mass detection” *Appl. Phys. Lett.* **84**, 4469 (2004).
26. T. R. Alberche, P. Grütter, D. Horne, D. Rugar “Frequency modulation detection using high-Q cantilevers for enhanced force microscope sensitivity” *J. Appl. Phys.* **69**, 668 (1991)
27. W.P. Robins “Phase Noise in Signal Sources” IEE Telecommunications Series 9, edited by J. E. Flood and C. J. Hughes, Ed. Peregrinus, London (1982).

Capítulo 3

Medidas en Líquidos: Excitación Fototérmica

Este Capítulo sienta las bases de las técnicas experimentales que se utilizan en la detección *in situ* en tiempo real. Por detección *in situ* se entiende la medida de la frecuencia de resonancia de la micropalanca en el medio en el que se llevan a cabo los procesos que pretendemos detectar. De este modo, como todos los ensayos tanto de adsorción como de reconocimiento molecular se realizan en medios líquidos comenzamos el capítulo haciendo un análisis de los efectos que tiene el medio sobre el comportamiento dinámico de la micropalanca. Este efecto se denomina comúnmente carga hidrodinámica y se resume en un desplazamiento de la resonancia hacia frecuencias más bajas y una disminución del factor de calidad. Además la amplitud de oscilación disminuye enormemente, por lo que se recurre a diversos métodos de excitación.

Al comienzo de la presente tesis doctoral se utilizaron los métodos de excitación mecano-acústica y magnética, bien descritos en la literatura. Sin embargo, tal y como veremos a lo largo del presente capítulo, estos métodos presentan serias limitaciones para la excitación de resonadores nanomecánicos. Por esa razón se ha desarrollado teórica y experimentalmente la excitación de resonadores nanomecánicos en líquidos basado en el efecto fototérmico.

3.1. CARGA HIDRODINÁMICA

De acuerdo con estudios previos [1–3], la dependencia con la frecuencia de la fuerza de rozamiento para micropalanca resonando en un fluido viscoso se relaciona con la fuerza hidrodinámica. Para una palanca que oscila en un fluido, la transformada de Fourier de la ecuación del movimiento se puede aproximar por la de un oscilador forzado

$$\left[\frac{k}{m} - \omega^2 \right] \hat{z}(\omega) = \hat{F}(\omega) \quad (3.1)$$

donde m es la masa efectiva del resonador, k la constante de recuperación, ω la frecuencia de resonancia y $\hat{F}(\omega)$ la fuerza externa aplicada, que se puede separar a su vez en dos contribuciones

$$\hat{F}(\omega) = \hat{F}_{hydro}(\omega) + \hat{F}_{th}(\omega) \quad (3.2)$$

siendo $\hat{F}_{th}(\omega)$ las fuerzas aleatorias de Langevin y $\hat{F}_{hydro}(\omega)$ la fuerza hidrodinámica.

La fuerza hidrodinámica depende de las propiedades del fluido que rodea la palanca. Para tomar en consideración las propiedades físicas del medio se introduce la ecuación de Navier – Stokes del movimiento del fluido [1]

$$-\nabla \vec{p} + \eta \nabla^2 \vec{u} = -i\rho\omega \vec{u} \quad (3.3)$$

donde ρ y η son respectivamente la densidad y la viscosidad del fluido, \vec{p} y \vec{u} los campos de presión y velocidad. Resolviendo esta ecuación teniendo en cuenta que el principal parámetro geométrico implicado es la anchura de la palanca, W , e imponiendo que el fluido es incompresible, la fuerza hidrodinámica que experimenta una palanca con una sección transversal circular vibrando en un fluido viene dada por

$$\hat{F}_{hydro} = \frac{\pi}{4} \rho \omega^2 W^2 \Gamma(\omega) z(\omega) \quad (3.4)$$

donde $\Gamma(\omega)$ es la función hidrodinámica, que se obtiene resolviendo la ecuación 3.3 para un sólido rígido cuya sección transversal es circular y su área coincide con la sección rectangular de la palanca

$$\Gamma(\omega) = 1 + \frac{4iK_1(-i\sqrt{i\text{Re}})}{\sqrt{i\text{Re}}K_0(-i\sqrt{i\text{Re}})} \quad (3.5)$$

donde K_0 y K_1 son las funciones modificadas de Bessel de tercer orden y

$$\text{Re} = \frac{\rho\omega W^2}{4\eta}$$

es el número de Reynolds, donde la anchura, W , tal y como hemos indicado es el parámetro dominante en el movimiento de oscilación. Sin embargo, la sección de las palancas utilizadas normalmente no es circular, sino rectangular. Por lo tanto, la función hidrodinámica debe ser corregida por un parámetro geométrico [1],

$$\Gamma_{rect}(\omega) = \Omega(\omega)\Gamma(\omega)$$

El parámetro que aparece en la expresión anterior, $\Omega(\omega)$, se calcula numéricamente como una función racional de $\log_{10}Re$, que satisface las condiciones asintóticas de $\Omega(\omega) \rightarrow 1$ cuando $Re \rightarrow 0$ y cuando $Re \rightarrow \infty$. Los coeficientes en la función racional anterior se evalúan haciendo un ajuste por mínimos cuadrados con los datos numéricos en el rango en el que el número de Reynolds varía entre 10^{-6} y 10^4 . Haciendo este procedimiento el factor de corrección geométrico se puede separar en parte real e imaginaria, $\Omega(\omega) = \Omega_r(\omega) + i \Omega_i(\omega)$

$$\Omega_r(\omega) = \frac{0.91324 - 0.48274\tau + 0.46842\tau^2 + 0.12886\tau^3 + 0.044055\tau^4 - 0.0035117\tau^5 + 0.00069085\tau^6}{1 - 0.56964\tau + 0.48690\tau^2 - 0.13444\tau^3 + 0.045155\tau^4 - 0.0035862\tau^5 + 0.00069085\tau^6}$$

$$\Omega_i(\omega) = \frac{-0.024134 - 0.029256\tau + 0.016294\tau^2 + 0.00010961\tau^3 + 0.000064577\tau^4 - 0.000044510\tau^5}{1 - 0.59702\tau + 0.55182\tau^2 - 0.18357\tau^3 + 0.079156\tau^4 - 0.014369\tau^5 + 0.0028361\tau^6}$$

donde hemos utilizado la siguiente definición $\tau = \log_{10} Re$.

De este modo podemos ver como varía la función hidrodinámica para una palanca de sección transversal rectangular cuya resonancia se encuentra en el rango de frecuencias de interés, entre 10kHz y 100kHz, figura 3.1. La palanca se supone resonando en agua y sus dimensiones son 200µm de largo y 20µm. Como suponemos que la vibración es flexural, el espesor en este caso no es relevante, pero para la simulación se ha tomado como 800nm. Lo que correspondería a las dimensiones típicas de una palanca comercial de AFM.

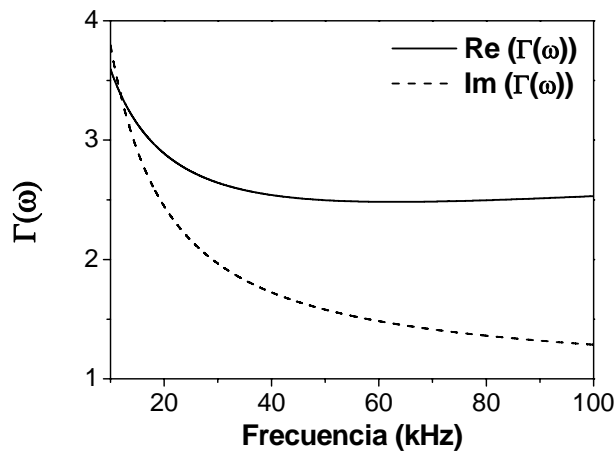


Figura 3.1. Variación de las partes real (línea continua) e imaginaria (línea discontinua) de la función hidrodinámica de una palanca de 200µm de largo y 20µm de ancho vibrando en agua pura.

El movimiento de la palanca en el fluido se ve afectado por dos mecanismos diferentes: por un lado la masa añadida que supone la columna de fluido que se encuentra por encima de la palanca; y por otro el rozamiento viscoso. Expandiendo la fuerza hidrodinámica en sus partes real e imaginaria se pueden obtener ambos factores por separado,

$$\gamma_n = \frac{12}{k_n^4} \frac{1}{\pi} \rho \omega^2 L \omega \operatorname{Im}[\Gamma_{rect}(\omega)] \quad (3.6)$$

$$m_{load_n} = \frac{3}{k_n^4} m_c \left[1 + \frac{4\rho \omega^2 L}{m_c \pi} \operatorname{Re}[\Gamma_{rect}(\omega)] \right] \quad (3.7)$$

donde m_c es la masa de la palanca, L su longitud, k_n los autovalores de la ecuación $1 + \cos(k_n L) \cosh(k_n L) = 0$ y el subíndice n hace referencia al modo de vibración.

De este modo podemos calcular la variación con la frecuencia de la constante de rozamiento en el mismo rango de frecuencias para la misma palanca resonando en agua pura, figura 3.3.

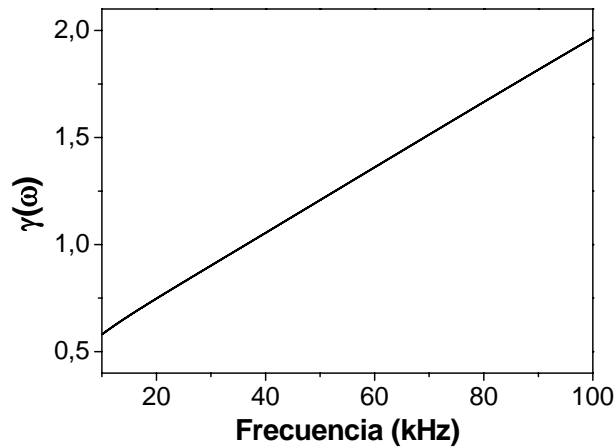


Figura 3.3. Variación con la frecuencia de la constante de rozamiento de la palanca vibrando en agua.

Teniendo en cuenta los resultados anteriores, la ecuación 3.1 se puede reescribir como la transformada de Fourier inversa de 3.1 y 3.4,

$$\left[m_{load}(\omega) \frac{d^2}{dt^2} + \gamma(\omega) \frac{d}{dt} + k \right] z(t) = F_{th}(t) + F_{hydro}(z) \quad (3.8)$$

De este modo vemos que la ecuación de movimiento de la micropalanca oscilando en un fluido es formalmente idéntica a la ecuación en aire. Únicamente debemos considerar por un lado la reducción de su frecuencia de resonancia debido a la masa añadida por el fluido y el efecto que introduce el aumento de la constante de rozamiento.

En este punto cabe preguntarse si son equivalentes, dinámicamente hablando, dos palancas, una de ellas resonando en agua y la otra en vacío, pero que presenten la misma frecuencia y factor de calidad, para ello las dimensiones y materiales deben ser, obviamente, diferentes. Esto es equivalente a estudiar las diferencias que se observan entre un oscilador armónico amortiguado y uno que presenta una dependencia con la frecuencia de su masa y su coeficiente de rozamiento. En la siguiente simulación teórica, figura 3.3, representamos el pico de resonancia correspondiente al primer modo flexural de una palanca. En línea negra estaría representado el pico correspondiente a la palanca resonando en vacío y en línea azul la palanca en el fluido. Vemos cómo la dependencia con la frecuencia de la masa añadida y la constante de rozamiento origina una deformación en el pico. Por lo tanto, no son completamente equivalentes y esta diferencia debería tenerse en cuenta para futuros análisis del comportamiento de la palanca en líquidos.

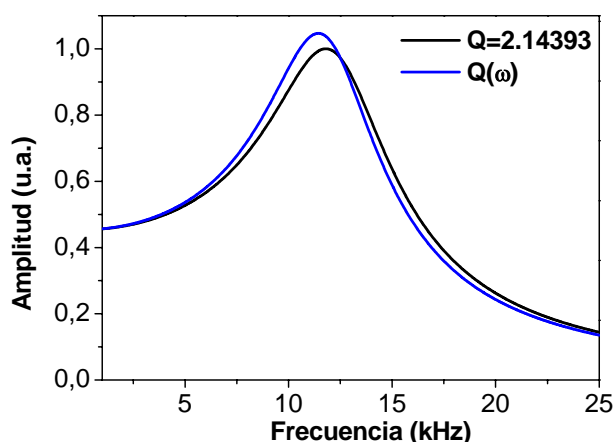


Figura 3.3. Simulación teórica de la amplitud en función de la frecuencia para dos picos de resonancia uno de los cuales tiene un factor de calidad fijo (línea negra) y el otro dependiente de las propiedades del fluido (línea azul).

De este modo, podemos simular el espectro de resonancia de la palanca descrita anteriormente vibrando en agua y en aire, figura 3.4, teniendo en cuenta las diferencias en cuanto a la densidad y viscosidad de ambos fluidos.

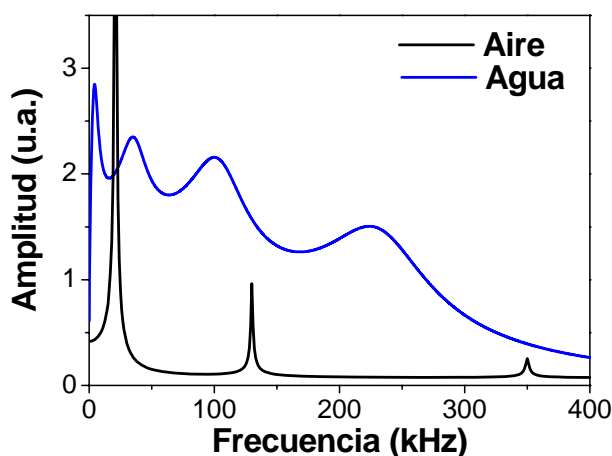


Figura 3.4. Simulación teórica del espectro de vibración de una palanca en aire (línea negra) y en agua (línea azul).

En la figura 3.4 se puede apreciar cómo la frecuencia de resonancia de cada uno de los modos baja debido a la masa añadida y, al mismo tiempo, la constata de rozamiento con el fluido hace que el factor de calidad disminuya, lo que se aprecia en la anchura de los diferentes modos. En la siguiente figura, figura 3.5, se muestra la medida experimental del espectro del ruido termomecánico medido para el mismo tipo de palancas que las simuladas anteriormente en aire (línea negra) y en agua (línea azul).

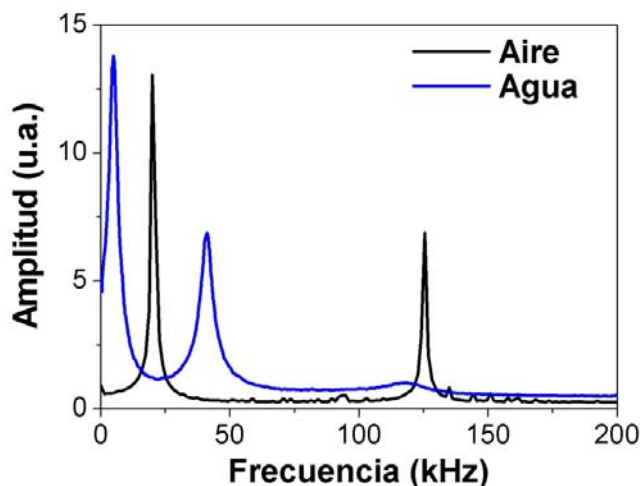


Figura 3.5. Medida experimental del espectro de ruido térmico de una palanca comercial de 200 μ m de largo, 20 μ m de ancho y 800nm de espesor en aire (línea negra) y en agua (línea azul).

Tal y como se puede apreciar, la simulación, figura 3.4, reproduce con bastante fiabilidad las principales características observadas experimentalmente, figura 3.5. Las pequeñas diferencias se deben a la presencia de ruido electrónico procedente del sistema de medida y a la utilización de filtros y amplificadores para acondicionar la señal del espectro medido en agua, ya que la amplitud de oscilación en esas condiciones es muy baja comparada con el espectro en aire.

3.2. MÉTODOS DE EXCITACIÓN

El trabajo con las micropalancas en líquido tiene como consecuencia que, además de la reducción de tanto la frecuencia de resonancia como del factor de calidad, la amplitud de oscilación también se vea reducida. La relación señal – ruido, por tanto, también se ve disminuida. Para aumentar la amplitud de oscilación de la palanca se utilizan diferentes métodos de excitación, teniendo cada uno de ellos ventajas e inconvenientes que pasaremos a analizar más detenidamente.

3.2.1. Excitación Mecano-Acústica

La excitación mecano-acústica o piezoeléctrica es el método de excitación más extendido en la literatura. En este método de excitación se utiliza una pequeña lámina de material piezoeléctrico (PZT) adosada al chip o a la celda de fluidos, tal y como se muestra en el siguiente esquema, figura 3.6.

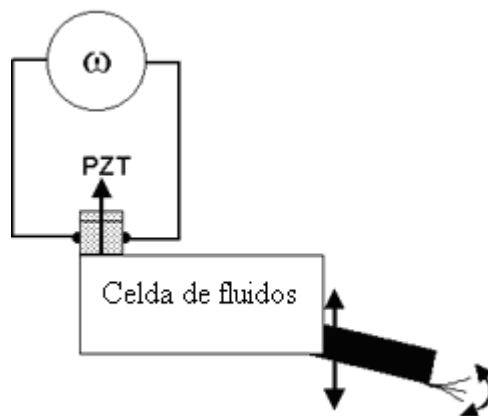


Figura 3.6. Esquema utilizado para la implementación de la excitación piezoeléctrica de micropalancas en líquidos.

La pizeoelectricidad (del griego *piezein*, "estrujar o apretar") es un fenómeno presentado por determinados cristales que al ser sometidos a tensiones mecánicas adquieren una polarización eléctrica en su masa, apareciendo una diferencia de potencial y cargas eléctricas en su superficie. Este fenómeno también se presenta a la inversa, esto es, se deforman bajo la acción de fuerzas internas al ser sometidos a un campo eléctrico. El efecto piezoeléctrico es normalmente reversible: al dejar de someter los cristales a un voltaje exterior o campo eléctrico, recuperan su forma.

Los materiales piezoeléctricos son cristales naturales o sintéticos que no poseen centro de simetría. El efecto de una compresión o de un cizallamiento consiste en disociar los centros de gravedad de las cargas positivas y de las cargas negativas. Aparecen de este modo dipolos elementales en la masa y, por influencia, cargas de signo opuesto en las superficies enfrentadas.

Por lo tanto, excitamos la palanca generando una señal con un generador de funciones que barra en frecuencia la zona del espectro de interés e inyectándolo en la cerámica a través de contactos eléctricamente aislados del líquido. En nuestro caso adosamos una cerámica piezoeléctrica a la parte posterior de la celda de fluidos, por lo que queda fuera del líquido, figura 3.7. Esta celda de fluidos, de diseño propio, está fabricada en PMMA (polimetilmetacrilato). Presenta un canal central abierto al paso de un fluido donde se sumergen las micropalancas pertenecientes a un mismo chip, figura 3.7.

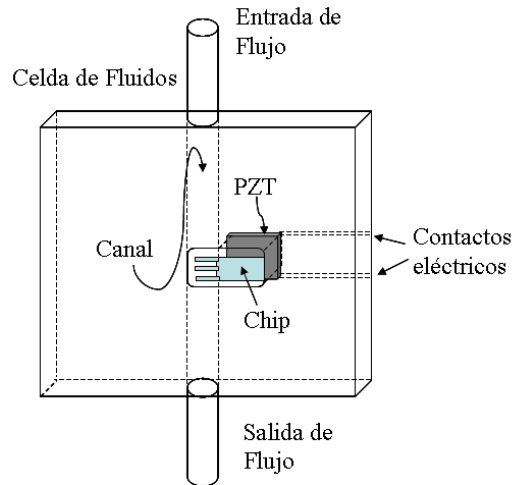


Figura 3.7. Diseño esquemático de la celda de fluidos utilizada para la implementación de la excitación piezoeléctrica de micropalancas en líquidos. La cerámica piezoeléctrica utilizada (PZT) se encuentra dentro de la propia celda, aislada del fluido.

Utilizando el mismo tipo de palancas que se describieron anteriormente, podemos medir el espectro de ruido térmico y el medido haciendo un barrido en frecuencia utilizando la excitación piezoeléctrica. En la figura 3.8 ambos espectros se han superpuesto para su comparación.

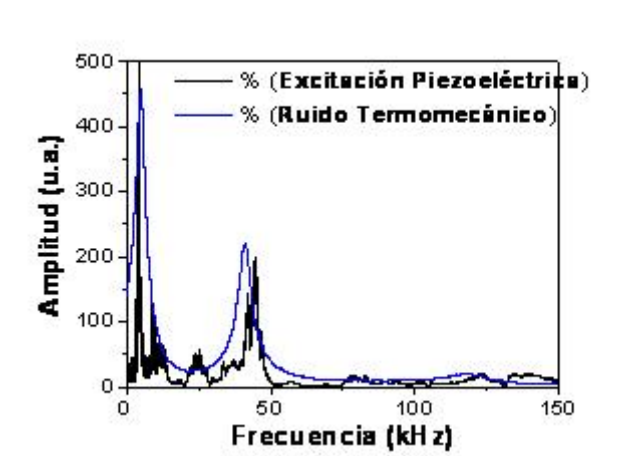


Figura 3.8. Medida experimental del espectro del ruido térmico (línea azul) y del espectro medido utilizando la excitación piezoeléctrica (línea negra) para una palanca comercial vibrando en agua.

Como se puede apreciar en la figura 3.8, la determinación de la frecuencia de resonancia propia de la palanca requiere de un estudio previo del espectro de ruido térmico de la misma, lo que hace que no sea viable para su implementación como sensor.

El problema de este tipo de técnicas es que estamos excitando todo tipo de resonancias espurias provenientes del fluido, de la celda, del chip, etc [4 – 6]. Lo que hace que la resonancia intrínseca de la palanca sea difícil de distinguir. Este tipo de

respuestas no es nuevo en la literatura y supone un reto para obtener imágenes de AFM en líquidos, tal y como se muestra en este trabajo de Schäffer y colaboradores [4], donde miden las resonancias espurias excitadas piezoeléctricamente y pueden separarlas de la propia de la palanca, figura 3.9.

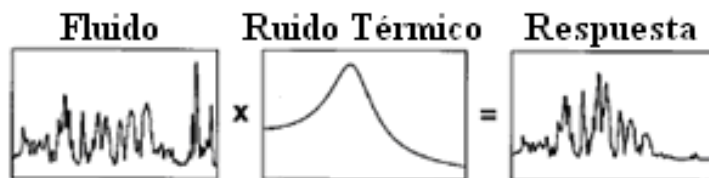


Figura 3.9. Respuesta de la palanca inmersa en el fluido como composición de las resonancias de la propia palanca y las provenientes del fluido. (Figura extraída de T. E. Schäffer, J. P. Cleveland, F. Ohnesorge, D. A. Walters, P. K. Hansma “Studies of vibrating atomic force microscope cantilevers in liquid” J. Appl. Phys. 80, 3623 (1996).)

3.2.2. Excitación magnética

Con el fin de actuar sólo sobre la palanca, podemos recubrirla de un material ferromagnético y emplazarla en un campo magnético variable con el tiempo [6, 7]. El campo magnético se obtiene de una bobina a través de la cual se hace pasar la corriente generada por el generador de funciones, tal y como se muestra en el siguiente esquema experimental, figura 3.10.

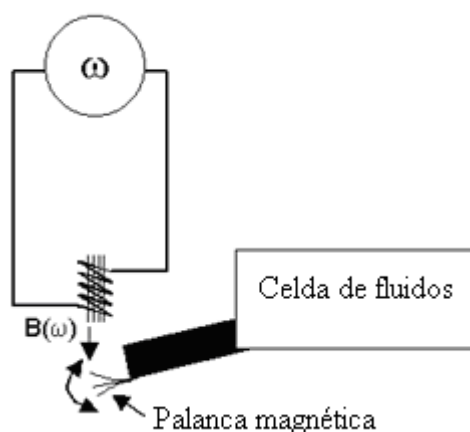


Figura 3.10. Esquema utilizado para la implementación de la excitación magnética de micropalancas en líquidos.

Sin embargo, este tipo de excitación presenta problemas cuando se quiere implementar en líquidos, debido a que las capas ferromagnéticas comúnmente utilizadas (hierro, cobalto o níquel) se corroen al cabo de pocas horas en líquido. Esta corrosión da lugar a una deflexión intolerable para un sensor y a la consiguiente pérdida de efectividad como medio excitador. Tal y como se hizo con la excitación piezoeléctrica, vamos a comparar el efecto de la excitación con el espectro de ruido térmico de la micropalanca, figura 3.11.

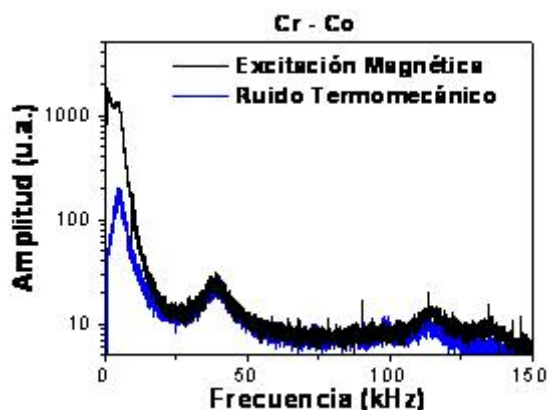


Figura 3.11. Medida experimental del espectro del ruido térmico (línea azul) y del espectro medido utilizando la excitación magnética (línea negra) para una palanca comercial cubierta con una fina capa de Cr – Co vibrando en agua.

Tal y como se puede apreciar en la figura anterior, no se observa el ruido que estaba presente en la excitación piezoeléctrica [6, 8]. Además el primer modo de resonancia se excita de manera significativa, nótese que la escala de amplitudes es logarítmica. Pero ahí precisamente reside uno de los problemas de este tipo de excitación ya que el segundo modo de vibración apenas se ve afectado. Al tratarse de una fuerza homogénea, perpendicular al plano de oscilación de la palanca, la fuerza efectiva ejercida sobre la palanca es proporcional a la integral del modo. Y como se mostró anteriormente en la figura 2.2 la presencia de los nodos de vibración hace que la proyección de la fuerza decaiga muy rápidamente con el modo. Esta es la razón de que el primer modo se excite mucho más que el segundo. De hecho, la excitación de los modos pares de vibración es muy complicada.

Los modos impares sí deberían poder ser excitados mediante el uso de esta técnica, pero el problema reside en la frecuencia de la señal generada. La impedancia de la bobina aumenta con la frecuencia, por lo tanto, la intensidad del campo magnético generado decae con la misma. De tal modo que, aunque la integral de la forma del modo a lo largo de toda la longitud de la palanca no sea cero para los modos impares superiores, el decaimiento con la frecuencia de la intensidad del campo hace que sean experimentalmente inaccesibles.

3.3. EXCITACIÓN FOTOTÉRMICA DE MICROPALANCAS EN LÍQUIDOS

3.3.1. Introducción

Tal y como se desprende de los resultados anteriores, la medida de la frecuencia de resonancia de la micropalanca en líquidos requiere la presencia de una fuerza de excitación. Sin embargo, la implementación de dicha fuerza en medios fisiológicos resulta en la mayor parte de los casos difícil o, incluso, inaccesible. De modo que necesitamos una técnica de excitación de la amplitud de oscilación de la palanca que esté aislada del medio de la mejor manera posible y que esté focalizada únicamente sobre la micropalanca.

Para este propósito a lo largo de la tesis se ha desarrollado la técnica de la excitación fototérmica de la micropalanca. El principio de funcionamiento de la técnica es muy sencillo: un láser modulado se enfoca a través de la celda de fluidos sobre la superficie de una micropalanca con un recubrimiento metálico, lo que hace que se caliente y, debido a la diferencia entre los coeficientes de expansión térmica de ambas caras induce una deflexión. Este tipo de modulación cumple, en principio, con las especificaciones que requería el sistema, ya que únicamente excita la palanca, con lo que desaparecen las resonancias espurias propias de la excitación mecano-acústica, y es aproximadamente lineal hasta una frecuencia de 500kHz. Pero además, tal y como veremos a lo largo de la presente sección tiene ventajas adicionales que hacen que esta técnica sea altamente recomendable, como que permite la excitación selectiva de modos altos de vibración.

3.3.2. Montaje Experimental

En la figura 3.12 se muestra una descripción esquemática del montaje experimental. La excitación de las palancas se lleva a cabo con un diodo láser cuya intensidad puede ser modulada desde la corriente continua hasta los 500kHz utilizando una modulación de entrada TTL (5mW, 635nm; Edmund Optics Ltd.). El haz láser se focaliza transversalmente sobre la palanca con un diámetro aproximado de 10 μ m conseguido por medio de una lente convergente. El diodo láser de excitación está montado sobre una estación microposicionadora en dos dimensiones con el fin de controlar la posición del haz focalizado a lo largo de la palanca con una precisión de $\pm 10 \mu$ m. Las palancas utilizadas son palancas comerciales (Olympus Ltd) de nitruro de silicio. Su longitud, anchura y espesor son 200 μ m, 20 μ m y 0.8 μ m respectivamente. Con el fin de aumentar el efecto fototérmico, el recubrimiento original de oro fue eliminado sumergiéndolo en una solución de ácido clorhídrico y ácido nítrico (3:1) y vuelto a recubrir con una capa de 5 nm de cromo y 70 nm de oro mediante evaporación térmica. La capa de cromo se utiliza para aumentar la adhesión entre el oro y el nitruro de silicio.

La vibración de la palanca se mide utilizando la técnica óptica de deflexión de haz, sección 1.2.5.1, donde un diodo láser no modulado (3mW, 635nm; Edmund Optics Ltd.) se focaliza cerca del extremo libre de la palanca y el haz reflejado se recoge con un fotodetector sensible a la posición de cuatro cuadrantes (Hamamatsu). Como la potencia de salida de este láser es constante, no afecta a la respuesta dinámica de la micropalanca. Las fotocorrientes del detector sensible a la posición son filtradas y

preamplificadas por unos conversores de corriente – voltaje (HMS). Las señales amplificadas son entonces conectadas a un ordenador personal vía conversores analógicos – digitales (National Instruments). Se utiliza un generador de funciones (Agilent 33220A, 20MHz de ancho de banda) controlado por el ordenador vía USB para modular la intensidad del láser de excitación. Para modular la intensidad se utilizó una onda cuadrada. La oscilación de la palanca se midió efectuando barridos en frecuencia del orden de 0.01s, sincronizando el barrido con el tiempo de adquisición durante el experimento. Los picos de resonancia se obtienen haciendo una transformada de Fourier de la oscilación.

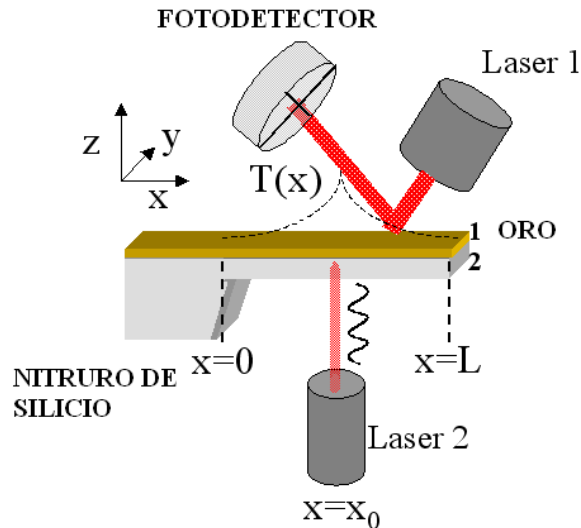


Figura 3.12. Descripción esquemática del montaje experimental utilizado para la excitación fototérmica. La intensidad de salida del láser 2 se modula para la excitación de la palanca, mientras que el láser 1 se utiliza para medir la vibración de la palanca.

3.3.3. Resultados Experimentales

Las medidas se realizaron en agua desionizada y a temperatura ambiente, para ello se diseñó y fabricó una celda de fluidos fabricada en PMMA. En la figura 2.2 se muestra la forma de los tres primeros modos de vibración flexurales para una palanca con un solo extremo libre. Con el fin de facilitar la discusión posterior, el extremo fijo y el libre están situados en $x = 0$ y $x = L$ respectivamente.

La figura 3.13.a muestra el espectro de frecuencias de la vibración de una palanca en agua correspondiente al primer modo flexural de vibración para distintas posiciones, x_0 , del foco del láser modulado a lo largo de la palanca. La línea discontinua muestra el espectro del ruido térmico para dicho modo. La frecuencia de resonancia es 5.66kHz y el factor de calidad es muy bajo, alrededor de 3.0 debido al alto rozamiento en los líquidos. Ambos parámetros se deducen ajustando el espectro del ruido térmico a la curva de resonancia para un oscilador armónico amortiguado [9].

Cuando el haz láser modulado se enfoca en el extremo libre de la palanca, $x_0 = 180\mu\text{m}$, no se produce ningún efecto significativo en el espectro. Sin embargo, cuando el láser de excitación se enfoca en el centro, $x_0 = 100\mu\text{m}$, la amplitud de la oscilación a frecuencia de resonancia se incrementa unas 125 veces. La amplitud aumenta todavía más desplazando el láser de excitación hasta $x_0 = 40\mu\text{m}$, pero cae de nuevo cuando se

enfoca cerca del extremo fijo, en $x_0 = 20\mu\text{m}$. Además se observa una pérdida de simetría del pico de resonancia en la excitación óptica, indicando que la fuerza de excitación decrece con la frecuencia, como se deduce de la forma de los picos.

La fuerza de excitación dependiente de la frecuencia produce un desplazamiento efectivo de la resonancia hacia frecuencias más bajas, del orden de 5-7% para x_0 igual a 20 y 40 μm , y, en algunos casos, como para $x_0 = 100\mu\text{m}$, hace difícil determinar la frecuencia de resonancia de forma clara. La amplitud de vibración a la frecuencia de resonancia en función de x_0 se muestra en la figura 3.13.b. La amplitud decrece continuamente con la posición de la excitación desde 40 hasta 180 μm .

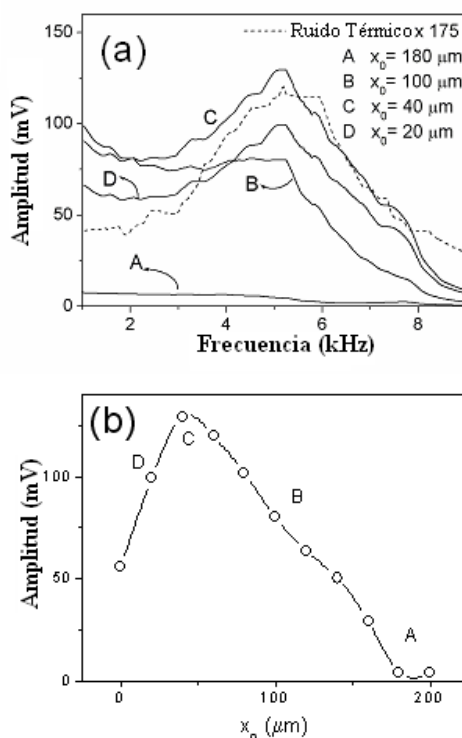


Figura 3.13. Resultados experimentales de la excitación fototérmica para el primer modo flexural de una palanca sumergida en agua. (a) Espectro de frecuencias para la vibración de la palanca cuando el láser modulado se enfoca en diferentes posiciones a lo largo de la palanca (líneas continuas). La línea punteada representa el espectro del ruido térmico. (b) Amplitud a la frecuencia de resonancia en función de la posición del haz láser de intensidad modulada a lo largo de la palanca. La línea que une los puntos sólo es una guía.

Del mismo modo, en la figura 3.14 se muestra el espectro en frecuencias del segundo modo flexural de vibración en función de x_0 (líneas continuas). El espectro del ruido térmico (línea discontinua en la figura 3.14.a) sitúa la resonancia en 39.6kHz con un factor de calidad de 5.3. Esta frecuencia de resonancia está en consistencia con la teoría de Euler-Bernouilli [9] que establece una relación entre las frecuencias de resonancia del primer y el segundo modo de 6.27. Se observa un pequeño desplazamiento de la resonancia hacia frecuencias más bajas.

Sin embargo, el efecto sobre la simetría de la curva de resonancia no es tan pronunciado como en el caso del primer modo (líneas continuas, figura 3.14.a). Este cambio de frecuencia varía entre 0.7 y 1% y depende ligeramente de x_0 . La amplitud a la frecuencia de resonancia sí depende críticamente de la posición, x_0 (figura 3.14.b). Se

localizan dos máximos de la amplitud en los puntos $x_0 = 120\mu\text{m}$ y $x_0 = 20\mu\text{m}$ con tres mínimos en $x_0 = 180\mu\text{m}$, $x_0 = 60\mu\text{m}$ y $x_0 = 0\mu\text{m}$.

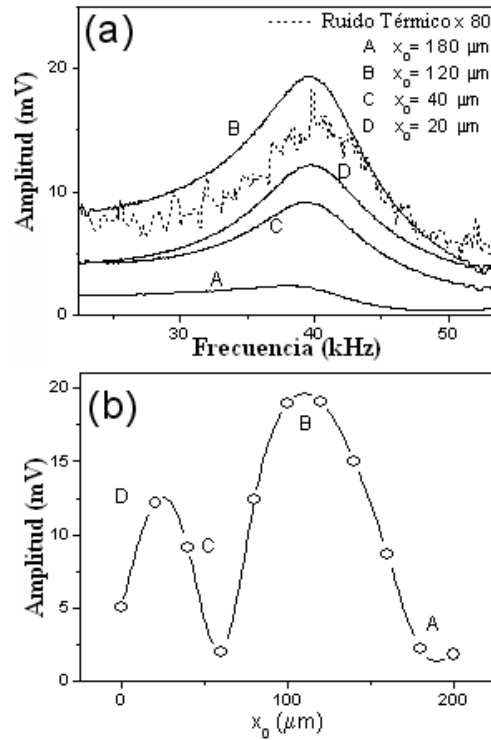


Figura 3.14. Resultados experimentales de la excitación fototérmica para el segundo modo flexural de una palanca sumergida en agua. (a) Espectro de frecuencias para la vibración de la palanca cuando el láser modulado se enfoca en diferentes posiciones a lo largo de la palanca (líneas continuas). La línea punteada representa el espectro del ruido térmico. (b) Amplitud a la frecuencia de resonancia en función de la posición del haz láser de intensidad modulada a lo largo de la palanca. La línea que une los puntos sólo es una guía.

La figura 3.15 muestra el efecto de la excitación por medio del láser modulado para el tercer modo de vibración. La medida del ruido térmico (línea discontinua, figura 3.15.a) sitúa la frecuencia de resonancia en 114.96 kHz, en un claro acuerdo con la teoría de Euler-Bernouilli, y el factor de calidad es 8.0. Nótese que el factor de calidad aumenta con el índice del modo de vibración.

El pico de resonancia no aparece significativamente distorsionado por la excitación óptica y el desplazamiento de la frecuencia es menor del 0.5% (líneas continuas, figura 3.15.a). La amplitud a la frecuencia de resonancia en función de la posición de la excitación, x_0 , presenta un comportamiento oscilatorio con cuatro máximos locales situados en el extremo libre, en el extremo fijo, en $x_0 = 80\mu\text{m}$ y en $x_0 = 140\mu\text{m}$ (figura 3.15.b).

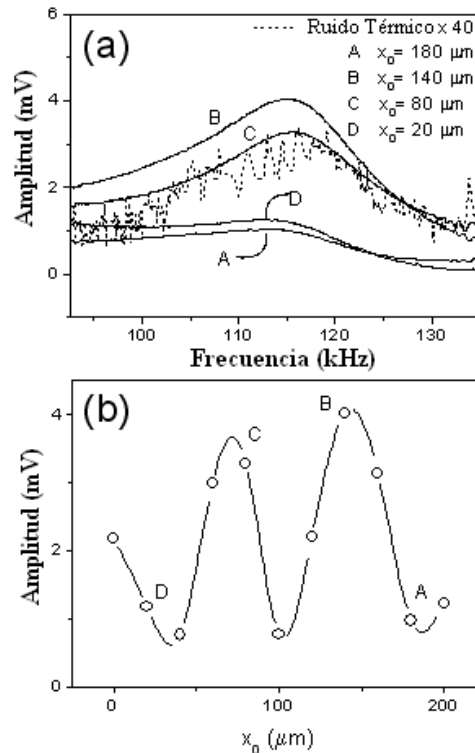


Figura 3.15. Resultados experimentales de la excitación fototérmica para el tercer modo flexural de una palanca sumergida en agua. (a) Espectro de frecuencias para la vibración de la palanca cuando el láser modulado se enfoca en diferentes posiciones a lo largo de la palanca (líneas continuas). La línea punteada representa el espectro del ruido térmico. (b) Amplitud a la frecuencia de resonancia en función de la posición del haz láser de intensidad modulada a lo largo de la palanca. La línea que une los puntos sólo es una guía.

3.3.4. Teoría

La excitación fototérmica está basada en la transformación de la energía óptica en calor y en la transformación de éste en energía mecánica. Por tanto, se pueden distinguir dos fases en la activación óptica que se serán descritas por separado en esta sección.

La primera parte se centrará en describir el perfil de temperatura a lo largo de la palanca provocado por un calentamiento periódico local debido a la absorción de la energía óptica. En la segunda parte se describe la vibración de la palanca debido a una diferencia en los coeficientes de expansión térmica entre la capa de metal depositado y el material de la palanca

3.3.4.1. Efecto Fototérmico

Cuando se enfoca un haz de luz cuya intensidad está modulada se produce una distribución de temperatura a lo largo de la micropalanca dependiente del tiempo debido a la absorción de la energía óptica. La potencia absorbida depende de la frecuencia óptica del láser de excitación y de la parte imaginaria del índice de refracción del

material absorbente [10]. Teniendo en cuenta nuestras condiciones experimentales, suponiendo que la incidencia del haz es perpendicular a la capa de oro y que la absorción óptica por parte del agua y del PMMA de la celda de fluidos es despreciable, se ha estimado que la potencia absorbida por la palanca es un 10% de la potencia total incidente. Como se mostrará más adelante, la longitud de difusión térmica es mucho mayor que el espesor de la palanca. Por tanto, es razonable asumir que la temperatura a lo largo del eje z es constante. Es más, se puede asumir que la temperatura a lo largo del eje y es también constante debido a que el diámetro del haz láser de excitación es comparable con la anchura de la palanca. Por tanto, la distribución de temperatura dependiente del tiempo se puede describir con la ecuación de difusión del calor en una dimensión [11].

$$\frac{\partial T}{\partial t} = K \frac{\partial^2 T}{\partial x^2} - \beta T \quad (3.9)$$

donde K y β vienen dados por,

$$K = \frac{\kappa_1 d_1 + \kappa_2 d_2}{c_{p1} \rho_1 d_1 + c_{p2} \rho_2 d_2} \quad (3.10)$$

$$\beta = \frac{h_1 + h_2}{c_{p1} \rho_1 d_1 + c_{p2} \rho_2 d_2} \quad (3.11)$$

donde κ es la conductividad térmica, ρ la densidad, c_p el calor específico, d el espesor de la palanca, h el coeficiente de transferencia de calor entre la palanca y el medio acuoso y los subíndices 1 y 2 denotan la capa metálica y el material de la palanca respectivamente.

Asumiremos que la distribución de temperatura oscila a la misma frecuencia que la intensidad de la luz, ω , por tanto, podemos escribir que $T(x,t)=T_0+\Delta T(x)e^{i\omega t}$, donde T_0 es la temperatura del fluido que rodea la palanca. Además, la distribución de temperatura debe satisfacer que el calor desprendido de la palanca desde el extremo libre, $x = L$, debe ser igual al que se disipa a través de la superficie por convección libre,

$$\left(\frac{\partial T}{\partial x} \right)_{x=L} = - \frac{h_1 d_1 + h_2 d_2}{\kappa_1 d_1 + \kappa_2 d_2} (T_{x=L} - T_0)$$

La solución para la ecuación 3.9 que satisface las condiciones anteriores se puede escribir como

$$\begin{aligned} \Delta T(x) &= \Delta T_0 \left\{ \text{Exp} \left[- \left(\frac{1}{\delta_{th}} + i \frac{2\pi}{\lambda_{th}} \right) (x - x_0) \right] + r \text{Exp} \left[\left(\frac{1}{\delta_{th}} + i \frac{2\pi}{\lambda_{th}} \right) (x + x_0 - 2L) + i\theta \right] \right\} \quad x \geq x_0 \\ \Delta T(x) &= \Delta T_0 \left\{ \text{Exp} \left[\left(\frac{1}{\delta_{th}} + i \frac{2\pi}{\lambda_{th}} \right) (x - x_0) \right] + r \text{Exp} \left[\left(\frac{1}{\delta_{th}} + i \frac{2\pi}{\lambda_{th}} \right) (x + x_0 - 2L) + i\theta \right] \right\} \quad x < x_0 \end{aligned} \quad (3.12)$$

donde δ_{th} y λ_{th} son la longitud de difusión térmica y la longitud de onda térmica respectivamente. La distribución de temperatura se comporta como una oscilación amortiguada, en la cual la amplitud de la temperatura cae exponencialmente con la distancia desde la posición de la excitación con una constante de decaimiento dada por la longitud de difusión térmica y el periodo dado por la longitud de onda térmica. Ambos parámetros dependen de las propiedades térmicas de los materiales de la palanca y de la frecuencia.

$$\delta_{th} = \left[\frac{2K}{\beta + (\beta^2 + \omega^2)^{1/2}} \right]^{1/2} \quad (3.13)$$

$$\lambda_{th} = 2\pi \left[\frac{2K}{-\beta + (\beta^2 + \omega^2)^{1/2}} \right]^{1/2} \quad (3.14)$$

La distribución de temperatura, tal y como está expresada en la ecuación 3.12, se divide en dos términos.

- El primer sumando representa la propagación de la onda térmica desde la región iluminada, supuesta puntual ($x = x_0$), hacia el extremo libre ($x \geq x_0$) y el extremo fijo ($x < x_0$).
- El segundo sumando representa la onda térmica reflejada en el extremo libre de la palanca. Los parámetros de la onda térmica reflejada, r y θ , dependen de las propiedades térmicas de los materiales, del coeficiente de transmisión del calor entre la palanca y el fluido y de la frecuencia de la modulación de la intensidad de la luz. Ambos parámetros se describen en la sección 3.4. Sin embargo, para los materiales, fluidos y frecuencias que se utilizan normalmente para la excitación fototérmica $r \cong 1$ y $\theta \cong 0$. Por otro lado, la amplitud de la onda térmica, ΔT_0 , se deduce en la sección 3.5 haciendo un balance de calor en $x = x_0$. Es proporcional a la potencia absorbida y depende de las propiedades térmicas del material, del fluido y de la frecuencia de modulación de la luz.

En la siguiente figura podemos ver cómo varía la reflexión de la onda térmica en función de la frecuencia (fig. 3.16.a) para diferentes valores del coeficiente de transmisión de calor con el medio, y cómo afecta este coeficiente a la reflexión para una frecuencia fija de 10kHz (fig. 3.16.b).

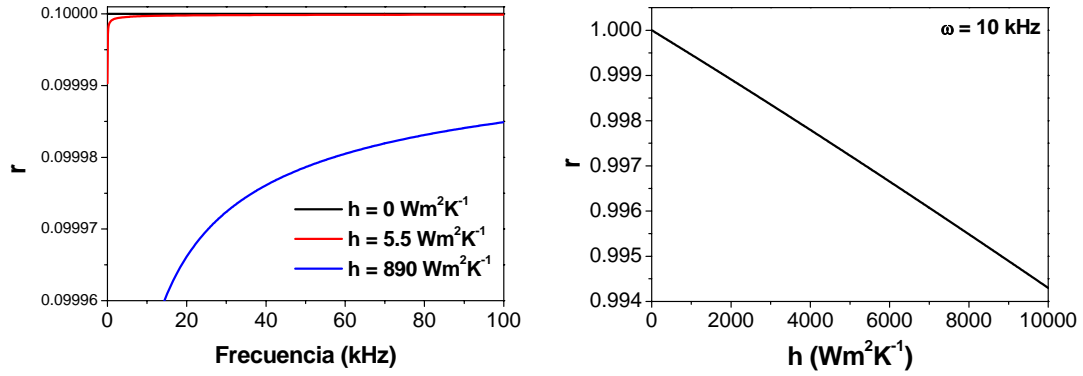


Figura 3.16. Variación de la amplitud de la onda térmica reflejada (a) en función de la frecuencia para diferentes valores del coeficiente de transmisión de calor con el medio (b) en función del coeficiente de transmisión de calor con el medio para una frecuencia fija de 10kHz.

Del mismo modo podemos hacer el estudio de la fase de la onda reflejada en función de la frecuencia (fig. 3.17.a) para los mismos valores del coeficiente de transmisión de calor que en el estudio anterior y en función de h para un valor de la frecuencia fijo a 10kHz, fig. 3.17.b.

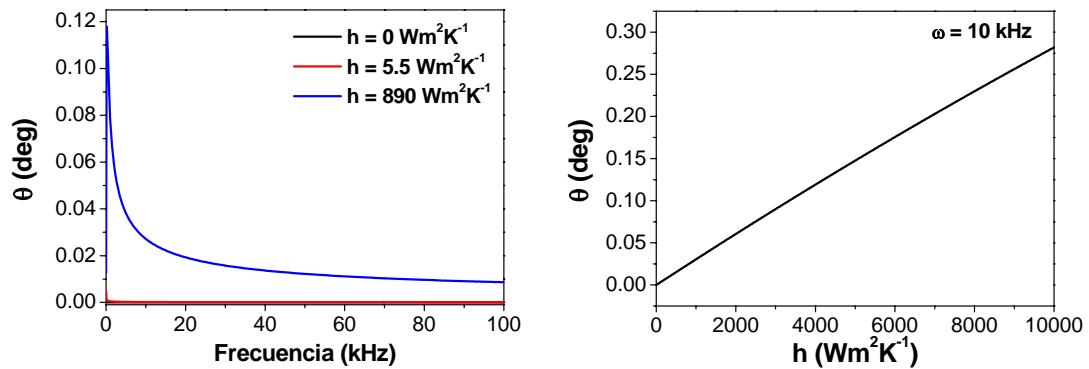


Figura 3.17. Variación de la fase de la onda térmica reflejada (a) en función de la frecuencia para diferentes valores del coeficiente de transmisión de calor con el medio (b) en función del coeficiente de transmisión de calor con el medio para una frecuencia fija de 10kHz.

Con el fin de simular los resultados experimentales mostrados anteriormente, los parámetros que se utilizan en los cálculos se muestran a continuación [12]. Los subíndices 1 y 2 se refieren siempre al oro y al nitrato de silicio respectivamente. $c_{p1}=135\text{JKg}^{-1}\text{K}^{-1}$, $c_{p2}=750\text{JKg}^{-1}\text{K}^{-1}$, $\rho_1=19300\text{Kg m}^{-3}$, $\rho_2=3400\text{Kg m}^{-3}$, $\kappa_1=346\text{Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$, $\kappa_2=32\text{Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$; los espesores del oro y del nitrato de silicio son, respectivamente, 70nm y 800nm, la anchura, W , y la longitud, L , de la palanca 20 y 200 μm . El coeficiente de transporte de calor ha sido elegido de medidas de la convección libre de calor entre el agua y los sólidos, $h_1 = h_2 = 890\text{Wm}^{-2}\text{K}^{-1}$; y la potencia de luz absorbida es 0.5mW.

La figura 3.18.a muestra el perfil de temperatura, $\Delta T(x)$, cuando la palanca es iluminada por el haz de excitación láser en el medio y cerca del extremo libre. La

frecuencia de modulación de la intensidad es 10 kHz. El perfil de temperatura muestra un máximo en la posición iluminada y decae exponencialmente con la distancia. La longitud de decaimiento viene dada por la longitud de difusión térmica, δ_{th} . El efecto de las ondas térmicas reflejadas se observa en el perfil de temperatura cuando el láser de excitación se enfoca cerca del extremo libre de la palanca. El decaimiento de la temperatura es menor hacia el extremo libre de la palanca que hacia el extremo fijo.

La aparición de ondas reflejadas es debida a la baja transmisión de calor en la interfase palanca-agua y, como el desfase es muy pequeño, al hecho de que la interferencia entre las ondas incidente y reflejada sea constructiva. Por otro lado, tanto el incremento de temperatura en la región iluminada, ΔT_0 , como la longitud de difusión térmica, δ_{th} , decrecen rápidamente cuando la frecuencia de la modulación de la intensidad de la luz aumenta (figura 3.18.b). Así, desde 1kHz hasta 100kHz, ΔT_0 y δ_{th} decaen desde 16K y 68 μm hasta 0.7K y 7 μm respectivamente. Por tanto, frecuencias más altas permiten un confinamiento del calor generado a regiones más pequeñas de la palanca, pero limita la cantidad de calor generada.

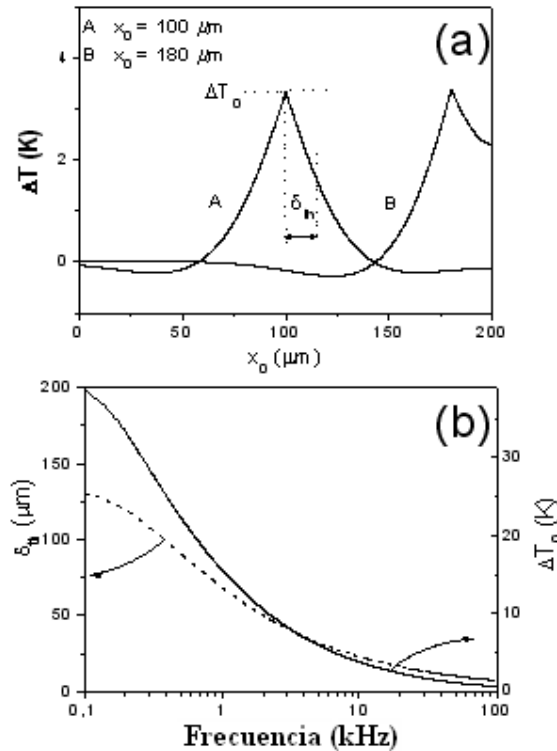


Figura 3.18. (a) Simulación teórica del perfil de temperatura para una palanca de 200 μm de largo cuando el láser cuya intensidad está modulada se enfoca a $x_0 = 100\mu\text{m}$ y a $x_0 = 180\mu\text{m}$. (b) Curvas simuladas para la longitud de difusión térmica y el aumento de temperatura en la región iluminada en función de la frecuencia

Del mismo modo podemos ver como varían estos parámetros, β y δ_{th} , en función de diferentes coeficientes de transmisión de calor con el medio, lo que nos puede dar una idea de la respuesta de la palanca ante la excitación en diferentes medios, figura 3.19.

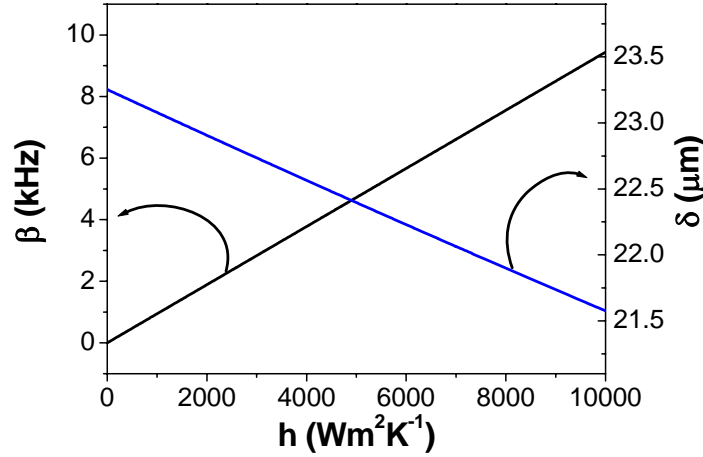


Figura 3.19. Variación de la difusividad de la temperatura (línea negra) y la longitud de difusión térmica (línea azul) en función del coeficiente de transmisión de calor con el medio.

Tal y como era de esperar, el coeficiente β , que hace referencia a la difusividad de la temperatura a lo largo del material de la palanca aumenta linealmente con el coeficiente de transmisión de calor con el medio. Sin embargo, la figura muestra que la longitud de difusión térmica decrece, es decir, el aumento de temperatura estará más confinado en la palanca cuanto mayor sea la pérdida de calor con el medio.

3.3.4.2. Vibración Asistida Fototérmicamente

La amplitud de la oscilación estacionaria de una palanca sometida a una fuerza periódica en el tiempo $f(x)e^{i\omega t}$ se describe en la teoría de Euler – Bernoulli [9],

$$A_n(\omega) = \frac{\psi_n^0(x)}{m \left(\omega_n^2 - \omega^2 + i \frac{\omega_n \omega}{Q_n} \right)} F_n \quad (3.15)$$

donde el subíndice n denota el modo de vibración, m es la masa de la palanca, ω_n la frecuencia de resonancia dependiente del modo, ψ_n^0 representa las autofunciones normalizadas que dan los perfiles de los modos y Q_n es el factor de calidad dependiente del modo. Las autofunciones y la frecuencia de resonancia para una viga fija únicamente por un extremo vienen dadas por [9]

$$\psi_n^0(x) = A_n \left[\sin k_n x - \sinh k_n x + \frac{(\sin k_n L + \sinh k_n L)(\cosh k_n x - \cos k_n x)}{\cos k_n L + \cosh k_n L} \right] \quad (3.16)$$

$$\omega_n = 2\pi f_n \cong k_n^2 \frac{d}{L^2} \sqrt{\frac{E_{eff}}{12\rho_{eff}}} \quad (3.17)$$

donde $d = d_1 + d_2$ es el espesor. E_{eff} y ρ_{eff} son el módulo de Young efectivo y la densidad de la palanca respectivamente y vienen dados por [13, 14]

$$E_{eff} = \frac{E_1^2 r_1^4 + E_2^2 r_2^4 + 2E_1 E_2 r_1 r_2 (2r_1^2 + 2r_2^2 + 3r_1 r_2)}{E_1 r_1 + E_2 r_2} \quad (3.18)$$

$$\rho_{eff} = \rho_1 r_1 + \rho_2 r_2 \quad (3.19)$$

donde $r_1 = d_1/d$ y $r_2 = d_2/d$.

F_n representa la fuerza efectiva que actúa sobre la palanca y se puede calcular a partir de la proyección de la fuerza de excitación por unidad de longitud del correspondiente perfil del modo de vibración,

$$F_n = \int_0^L f(x) \psi_n^0(x) dx \quad (3.20)$$

El calor generado por el haz de luz produce una diferencia en la tensión longitudinal de las capas debido a la diferencia en los coeficientes de expansión térmica de los materiales de la palanca.

La tensión flexural viene dado por $\alpha_1 E_1 \Delta T(x) e^{i\omega t}$ para $z > 0$ y $\alpha_2 E_2 \Delta T(x) e^{i\omega t}$ para $z < 0$ ($z = 0$ es la intercara oro – nitruro de silicio); donde α es el coeficiente de expansión térmica. La diferencia flexural de tensión produce un momento de curvatura que puede ser tomado como constante a lo largo de elementos diferenciales de longitud [15]. Por tanto, una variación de la temperatura en el elemento de longitud comprendido entre x_0 y $x_0 + dx_0$ produce una distribución del momento de curvatura $dM_{th}(x) e^{i\omega t}$, donde,

$$dM_{th}(x) \cong W \left(\int_0^{d_1} \alpha_1 E_1 (z - z_0) dz + \int_{-d_2}^0 \alpha_2 E_2 (z - z_0) dz \right) [H(x - x_0 - dx_0) - H(x - x_0)] \Delta T(x_0) \quad (3.21)$$

donde W es la anchura de la palanca, z_0 es la posición del eje neutro con respecto a la intercara oro–nitruro de silicio, y H representa la función paso de Heaviside. El término $[H(x - x_0 - dx_0) - H(x - x_0)]$ se puede aproximar por $\delta(x - x_0) dx_0$ cuando dx_0 tiende a cero, donde δ representa la función delta de Dirac, mientras que el eje neutro se determina imponiendo que la fuerza neta flexural en la palanca debe ser cero [13],

$$z_0 = \frac{1}{2} \frac{E_1 d_1^2 - E_2 d_2^2}{E_1 d_1 - E_2 d_2} \quad (3.22)$$

La distribución del momento de curvatura para un perfil de temperatura a lo largo de la palanca viene entonces dado por $M_{th}(x) e^{i\omega t}$, donde la parte espacial se obtiene integrando la ecuación 3.21,

$$M_{th}(x) = -c_{th} \int_0^L \Delta T(x_0) \delta(x - x_0) dx_0 \quad (3.23)$$

donde

$$c_{th} = \frac{1}{2} W [\alpha_1 E_1 d_1 (d_1 - 2z_0) - \alpha_2 E_2 d_2 (-d_2 + 2z_0)]$$

Aplicando la teoría de Euler-Bernouilli, el momento inducido fototérmicamente se compensa con una fuerza transversal cuya distribución espacial por unidad de longitud viene dada por [9],

$$f_{th}(x) = -\frac{\partial^2 M_{th}(x,t)}{\partial x^2} \quad (3.24)$$

Por tanto, la fuerza efectiva por unidad de longitud que actúa sobre la palanca se puede escribir como,

$$F_n = c_{th} \int_0^L T(x_0) dx_0 \int_0^L \psi_n^0(x) \frac{\partial^2}{\partial x^2} \delta(x - x_0) dx \quad (3.25)$$

Utilizando las propiedades de la función delta de Dirac, la fuerza efectiva dependiente del modo se puede escribir como

$$F_n = c_{th} \int_0^L T_{th}(x_0) \frac{d^2 \psi_n^0(x_0)}{dx_0^2} dx_0 \quad (3.26)$$

De este modo, podemos estudiar la variación de la fuerza con diferentes condiciones iniciales y en los diferentes modos de vibración. En las siguientes simulaciones supondremos, salvo que se indique lo contrario, que la palanca vibra en agua y que el tamaño del spot del láser modulado es de 20µm. En la figura 3.20.a se muestra la variación de la proyección de la fuerza inducida fototérmicamente sobre el primer modo de vibración en función de la frecuencia para diferentes puntos de focalización sobre la palanca y la variación con el punto de aplicación para una frecuencia fija de 10kHz, fig. 3.20.b.

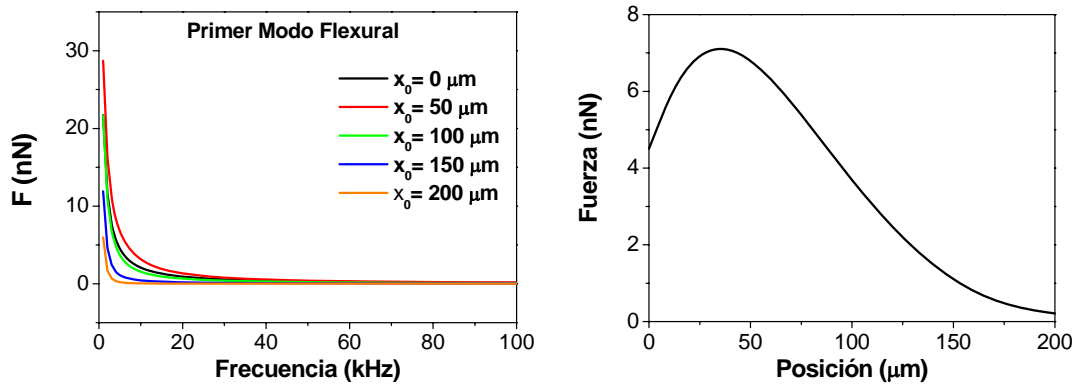


Figura 3.20.a Simulación teórica de la variación de la proyección de la fuerza inducida fototérmicamente sobre el primer modo de vibración en función de la frecuencia para diferentes puntos de focalización sobre la palanca y (b) variación con el punto de aplicación para una frecuencia fija de 10kHz.

Como vemos, la dependencia con la frecuencia es aproximadamente exponencial para cada uno de los puntos a lo largo de la palanca. La fuerza ejercida es del orden de los nanoNewtons (10^{-9} N), con un máximo en torno a las $40\mu\text{m}$ de separación respecto del extremo fijo de la palanca igual a 7nN .

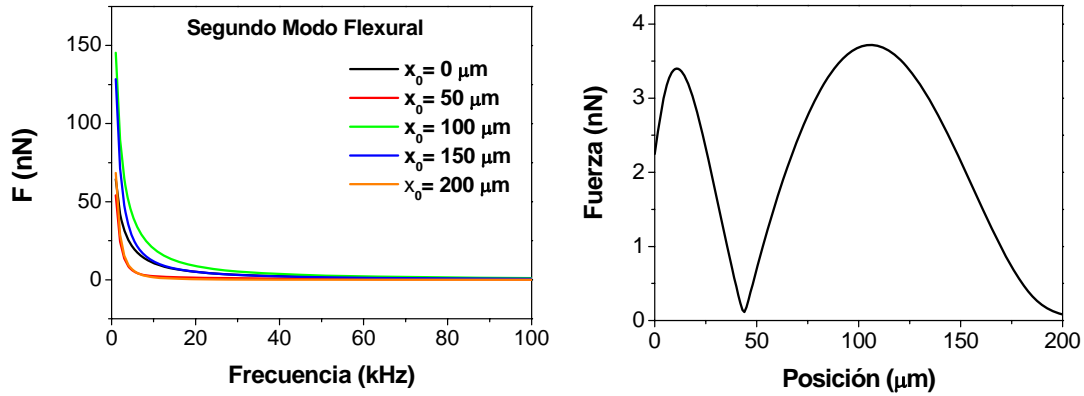


Figura 3.21.a Simulación teórica de la variación de la proyección de la fuerza inducida fototérmicamente sobre el segundo modo de vibración en función de la frecuencia para diferentes puntos de focalización sobre la palanca y (b) variación con el punto de aplicación para una frecuencia fija de 10kHz .

En la figura 3.21.a se muestra la dependencia de la fuerza proyectada sobre el segundo modo de vibración con la frecuencia, mostrando el mismo decaimiento exponencial con la misma. En cuanto a la dependencia con la posición del punto de aplicación, figura 3.21.b, la fuerza muestra esta vez dos máximos, uno en torno a $20\mu\text{m}$ y otro en $120\mu\text{m}$ respecto del extremo fijo. La máxima fuerza ejercida es de 3.5nN .

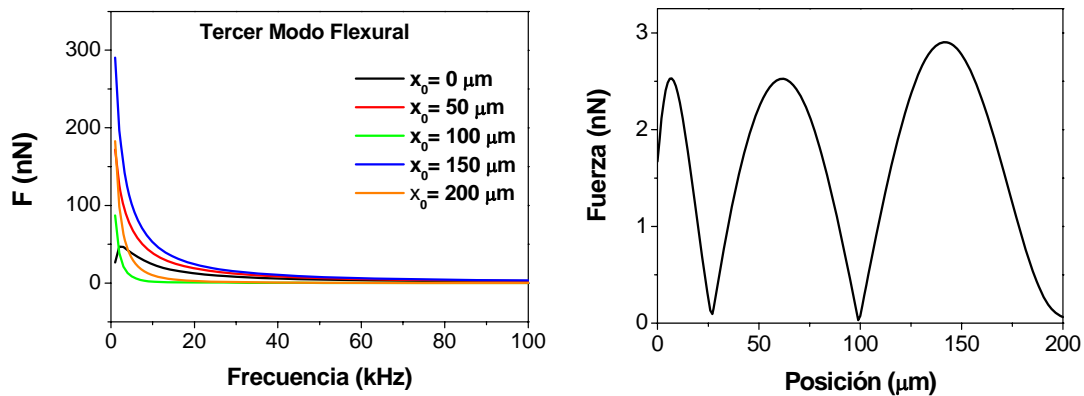


Figura 3.22.a Simulación teórica de la variación de la proyección de la fuerza inducida fototérmicamente sobre el tercer modo de vibración en función de la frecuencia para diferentes puntos de focalización sobre la palanca y (b) variación con el punto de aplicación para una frecuencia fija de 10kHz .

La figura 3.22.a muestra la proyección de la fuerza ejercida sobre el tercer modo de vibración de la palanca. En este caso, podemos ver que cuando el punto de aplicación es el extremo fijo, la fuerza no varía de la misma manera con la frecuencia. Esto es debido a que el tamaño del spot modulado, $20\mu\text{m}$, es mayor que la distancia al primer nodo de vibración. En cuanto a la variación con la posición del spot modulado, para este modo la fuerza presenta tres nodos, figura 3.22.b, lo que se corresponde con los tres nodos de vibración del tercer modo flexural. Estos máximos están situados respectivamente a 10, 60 y $150\mu\text{m}$, estando el máximo absoluto en $150\mu\text{m}$ llegando a ejercer una fuerza de 3nN .

3.3.5. Resultados Teóricos

Las figuras 3.23, 3.24 y 3.25 muestran las curvas teóricas de la resonancia para diferentes posiciones de excitación a lo largo de la palanca (x_0), y la fuerza ejercida por la excitación fototérmica en función de x_0 para los tres primeros modos de vibración. Los parámetros utilizados para simular los resultados experimentales son los indicados en la sección 3.3.2.1 además de los coeficientes de expansión térmica para el oro y el nitruro de silicio [12]: $\alpha_1=14.2\cdot 10^{-6}$, $\alpha_2=3.2\cdot 10^{-6}$. Las frecuencias de resonancia y los factores de calidad usados en los cálculos teóricos son los mismos que los medidos experimentalmente (sección 3.3.1); la amplitud de vibración ha sido calculada a $190\mu\text{m}$ del extremo fijo, en el punto donde se enfoca el haz láser utilizado en la detección óptica.

Las curvas teóricas muestran las mismas características que se encontraron en los resultados experimentales:

- La amplitud de la vibración en función de la posición de la excitación sigue una dependencia monótona para el primer modo y no monótona para los modos superiores.
- Los picos de resonancia son el resultado del producto de una respuesta armónica de la palanca y de la fuerza de excitación óptica, que decae con la frecuencia.

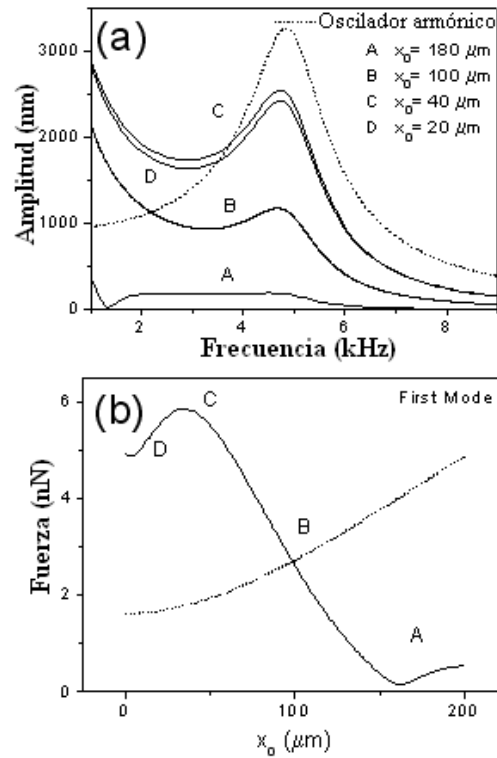


Figura 3.23. Resultados teóricos para la excitación fototérmica del primer modo flexural de una palanca sumergida en agua. (a) Espectro de frecuencia para la vibración de la palanca cuando el láser modulado se enfoca a diferentes posiciones a lo largo de la palanca (líneas continuas). La línea punteada representa el resultado de la aproximación del oscilador armónico. (b) Amplitud de la fuerza de excitación resultante en función de la posición donde se enfoca el haz de intensidad modulada a lo largo de la palanca. La línea punteada representa el perfil del modo de oscilación

En general, como se desprende de la ecuación 3.26, la fuerza de excitación es aproximadamente proporcional a la curvatura del modo ($d^2\psi_n^0/dx^2$) en el punto que el que se focaliza el haz láser de intensidad modulada. Para el primer modo de vibración, la curvatura del perfil crece desde el extremo libre hasta el fijo. Así pues, la vibración del primer modo se excita más eficazmente cerca del extremo fijo.

El segundo y el tercer modo de vibración presentan uno y dos antinodos (puntos de máxima amplitud de la vibración y, por tanto, de mayor curvatura) respectivamente. Por tanto, estos modos de vibración se excitan de forma más eficaz focalizando el láser modulado cerca de los antinodos, además de cerca del extremo fijo.

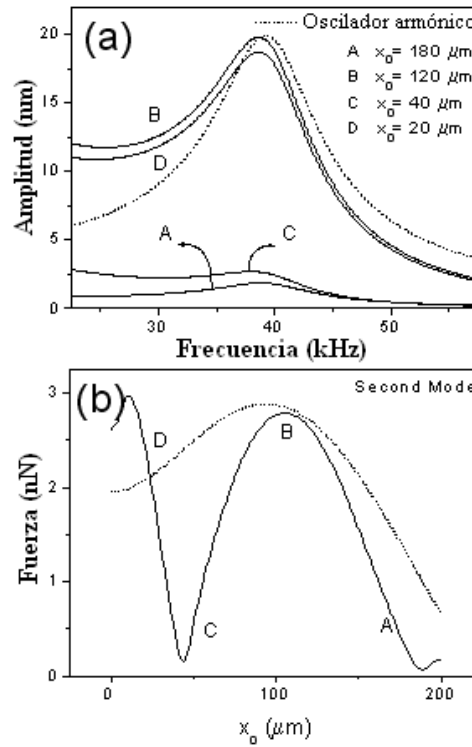


Figura 3.24. Resultados teóricos para la excitación fototérmica del segundo modo flexural de una palanca sumergida en agua. (a) Espectro de frecuencia para la vibración de la palanca cuando el láser modulado se enfoca a diferentes posiciones a lo largo de la palanca (líneas continuas). La línea punteada representa el resultado de la aproximación del oscilador armónico. (b) Amplitud de la fuerza de excitación resultante en función de la posición donde se enfoca el haz de intensidad modulada a lo largo de la palanca. La línea punteada representa el perfil del modo de oscilación.

Lo que resulta aún más interesante es que la fuerza ejercida por la excitación óptica presenta un máximo local en el extremo libre de la palanca para los tres modos de vibración (figuras 3.23.b, 3.24.b y 3.25.b). Esto se infiere también de los resultados experimentales (figuras 3.13.b, 3.14.b y 3.15.b). Este incremento de la amplitud está causado por las ondas térmicas reflejadas, cuya amplitud es más significativa cuando el láser es enfocado cerca del extremo libre de la palanca. Las ondas térmicas reflejadas provienen de la baja transmisión de calor entre la palanca y el agua. Aunque estas ondas térmicas reflejadas no juegan un papel importante para las palancas de $200 \mu\text{m}$ de longitud usadas en este trabajo, pueden producir efectos significativos en palancas cuya longitud sea del orden o menor que la longitud de difusión térmica.

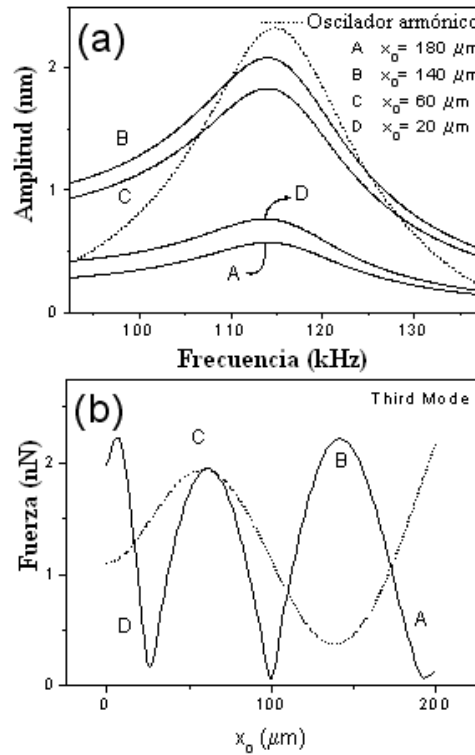


Figura 3.25. Resultados teóricos para la excitación fototérmica del tercer modo flexural de una palanca sumergida en agua. (a) Espectro de frecuencia para la vibración de la palanca cuando el láser modulado se enfoca a diferentes posiciones a lo largo de la palanca (líneas continuas). La línea punteada representa el resultado de la aproximación del oscilador armónico. (b) Amplitud de la fuerza de excitación resultante en función de la posición donde se enfoca el haz de intensidad modulada a lo largo de la palanca. La línea punteada representa el perfil del modo de resonancia

El aumento de temperatura inducido fototérmicamente depende críticamente de la frecuencia de la modulación del láser. Cuanto mayor sea la frecuencia, menor será el incremento de temperatura y además estará más confinado espacialmente (figura 3.18.b). Como la fuerza de excitación es aproximadamente proporcional a la temperatura, el incremento de temperatura dependiente de la frecuencia cambia el perfil de la resonancia y la desplaza hacia frecuencias más bajas. Este efecto se observa más claramente en el primer modo de vibración y es menos importante en modos superiores debido a que la dependencia en la frecuencia del incremento de temperatura se suaviza a altas frecuencias. Además, esta dependencia con la frecuencia depende ligeramente de la posición de la excitación debido a la presencia de las ondas térmicas reflejadas. Se desprenden dos consecuencias de este efecto:

- La primera de ellas es que el desplazamiento efectivo de la resonancia a frecuencias menores depende de la posición de la excitación.
- La segunda es que hay una pequeña desviación de las posiciones de excitación donde la amplitud es máxima respecto a las posiciones de los antinodos.

La dependencia de la fuerza de excitación con el modo de vibración es función tanto del incremento de temperatura que decae con la frecuencia como de la curvatura

del perfil de la vibración. Así, el incremento de temperatura es de 15K para el primer modo de vibración, mientras que es sólo de 0.8K para el tercero. Sin embargo, la máxima fuerza ejercida por la excitación sólo decrece de 9.34nN para el primer modo hasta 4.24nN para el tercero debido al incremento de curvatura en los antinodos con el índice del modo de vibración. Más aún, la menor distancia entre los antinodos conforme aumentamos el índice del modo de vibración está compensada por un confinamiento espacial mayor del calor con la frecuencia. Por tanto, la longitud de difusión térmica en la frecuencia de resonancia del primer modo es de 33.7 μ m, mientras que es de 7.3 μ m para el tercero, menor que la distancia entre nodos.

3.3.6. Optimización del Efecto Fototérmico

Tal y como se ha mostrado anteriormente, el efecto fototérmico se puede dividir en dos partes: la absorción de luz por parte de la micropalanca y la posterior transformación del aumento de temperatura inducida en una expansión de las diferentes capas que componen la estructura.

Por tanto, el principal factor a tener en cuenta es la elección de los materiales de la viga. Tal y como se muestra en la ecuación 3.23, la diferencia entre los parámetros de expansión térmica debe ser la máxima posible. Sin embargo, no siempre es posible elegir, ya que las técnicas de fabricación están optimizadas para ciertos materiales, como el silicio o el nitruro de silicio.

El parámetro que sí podemos cambiar a voluntad es el espesor de la capa metálica que recubre la viga. Tal y como se deduce de la expresión 3.23, el espesor juega un papel muy importante. De este modo, podemos maximizar el parámetro geométrico c_{th} en función de la relación de espesores, fig. 3.26

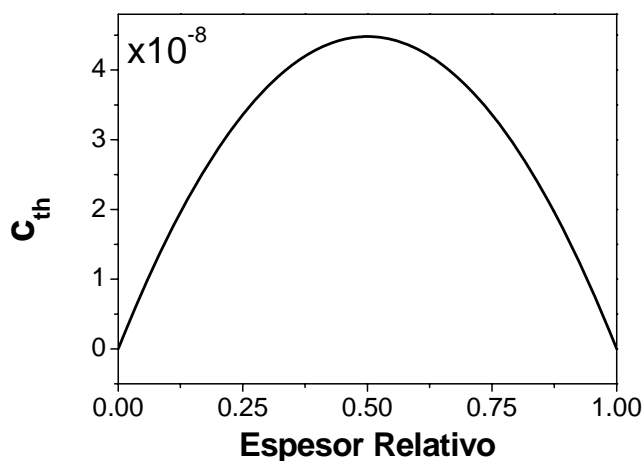


Figura 3.26. Variación del parámetro geométrico c_{th} en función de los espesores relativos de las capas de nitruro de silicio y de oro.

Tal y como se puede ver en la gráfica anterior, figura 3.29, el máximo del parámetro c_{th} se alcanza cuando los espesores de la palanca y de la capa metálica que la recubre son iguales. Experimentalmente esto es muy difícil de obtener debido a la tensión que se produce en la palanca al depositar una capa encima. Por tanto, debemos conseguir depositar la mayor cantidad de metal posible evitando en la medida de lo

posible que la palanca se doble en exceso, lo que dificultaría la medida mediante la técnica de reflexión de haz anteriormente referida.

Tras numerosas pruebas, logramos fijar una relación máxima de espesores 1:10, es decir, para una palanca de nitruro de silicio de 800nm de espesor, logramos metalizar 80nm de oro sobre la misma. La tasa de crecimiento se fija a $0.1\text{\AA}/\text{s}$, muy baja para que la deposición sea lo más homogénea posible y que los átomos de oro lleguen con la menor energía posible a la palanca y se reduzca la tensión superficial. Las pruebas que se hicieron a mayor espesor dieron como resultado curvaturas intolerables para la lectura óptica.

Otro parámetro a tener en cuenta a la hora de intentar maximizar el efecto bimetalico es el ángulo de incidencia de la luz láser modulada. En los resultados experimentales presentados anteriormente la incidencia de la luz es perpendicular al plano de la palanca. Sin embargo, podemos calcular teóricamente el ángulo óptimo de incidencia para la posterior modificación del sistema experimental. En este cálculo consideramos que la palanca se encuentra inmersa en agua (índice de refracción $n = 1.33$) y que el láser rojo (633nm) incide por la capa de nitruro de silicio ($n = 2$) con un espesor de la capa de oro ($n = 0.24+3.1i$) de 70nm, tal y como se indica en la figura 3.27.

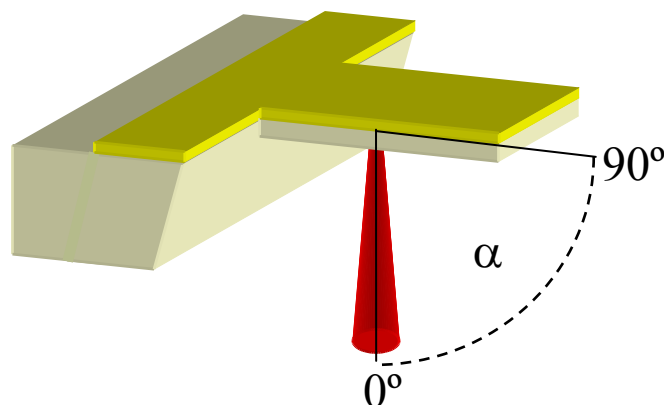


Figura 3.27. Esquema ilustrativo de la dependencia con el ángulo del láser modulado sobre la palanca.

De este modo, resolviendo por el método de las matrices de medios continuos, podemos calcular el porcentaje de luz absorbida, reflejada y transmitida para los parámetros fijados anteriormente en función del ángulo α [10]. En la figura 3.28 se puede observar cómo la reflexión tiene un mínimo entre los 50° y los 65° . Los subíndices pp y ss indican las componentes de la luz perpendicular y secante de la luz. Como no estamos suponiendo ninguna polarización determinada, estaremos siempre entre las dos líneas mostradas en la figura.

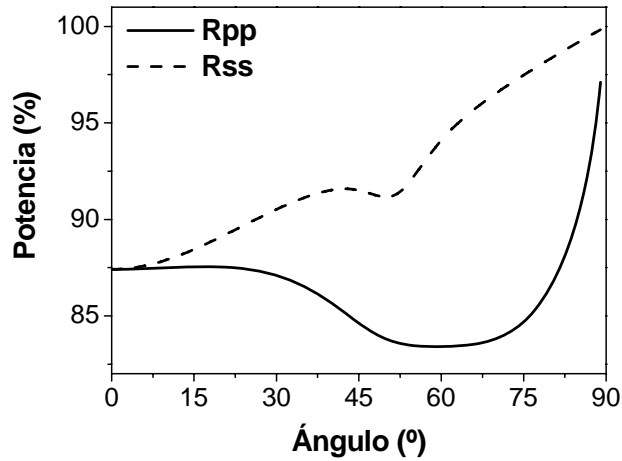


Figura 3.28. Simulación teórica de la reflexión del haz de luz modulado utilizado para la excitación fototérmica sobre la palanca inmersa en agua. La línea continua muestra la componente perpendicular de la luz, mientras que la línea discontinua muestra la componente secante.

La transmisión de luz se muestra en la figura 3.29. Tal y como se puede observar, su magnitud es mucho menor que en el caso de la reflexión, no llegando en ningún caso al 5%. Las componentes perpendicular y secante tienen comportamientos diferenciados, mientras que la perpendicular presenta dos máximos, estando el mayor de ellos prácticamente en incidencia rasante, la componente secante sólo tiene uno, en torno a 50°.

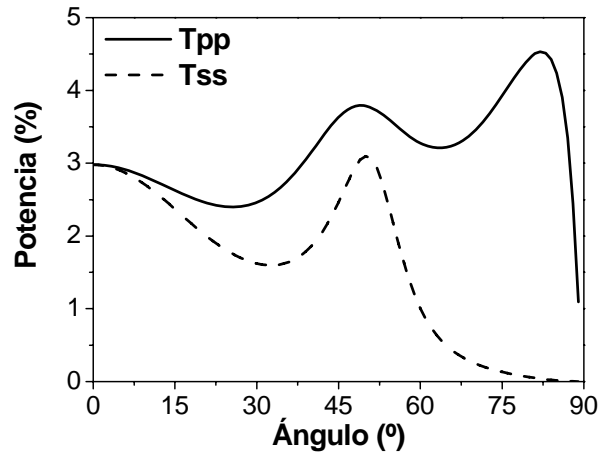


Figura 3.29. Simulación teórica de la transmisión del haz de luz modulado sobre la palanca inmersa en agua. La línea continua muestra la componente perpendicular de la luz, mientras que la línea discontinua muestra la componente secante.

En cuanto a la absorción de luz, en la figura 3.30 vemos que, tal y como se ha mencionado en el texto, cuando la incidencia de la luz es normal a la superficie de la palanca, la potencia absorbida se encuentra en el 10%. El comportamiento de las dos componentes de la luz es muy diferente. Mientras que la componente perpendicular aumenta hasta los 65° para luego disminuir progresivamente, la componente secante decae con el ángulo de incidencia, presentando un pequeño plateau hacia los 50°.

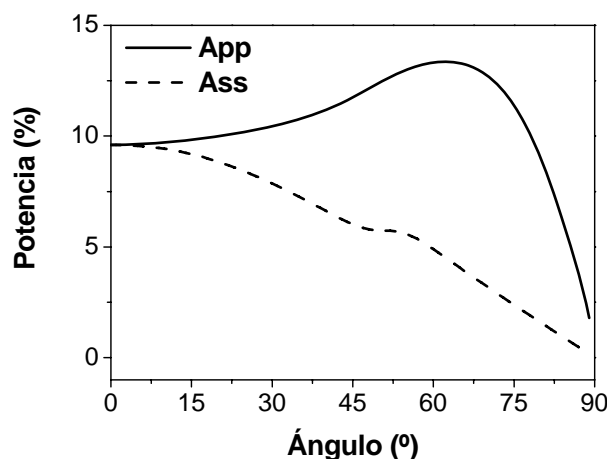


Figura 3.30. Simulación teórica de la absorción del haz de luz modulado sobre la palanca inmersa en agua. La línea continua muestra la componente perpendicular de la luz, mientras que la línea discontinua muestra la componente secante.

Además del espesor y del ángulo de incidencia del láser modulado, podemos variar la longitud de onda de la luz. Teniendo en cuenta que la palanca se encuentra sumergida en agua procedemos a calcular la absorción de luz para el rojo (635nm), el verde (532nm) y el azul (475nm). El espesor se ha fijado al espesor experimental de 70nm. Para mayor claridad, sólo se muestra la variación con el ángulo de incidencia hasta los 15°, ya que el comportamiento es similar al observado en la figura anterior. Tal y como se puede apreciar en la figura 3.31 la mayor absorción se produce para la longitud de onda del rojo, siendo la menor la del azul.

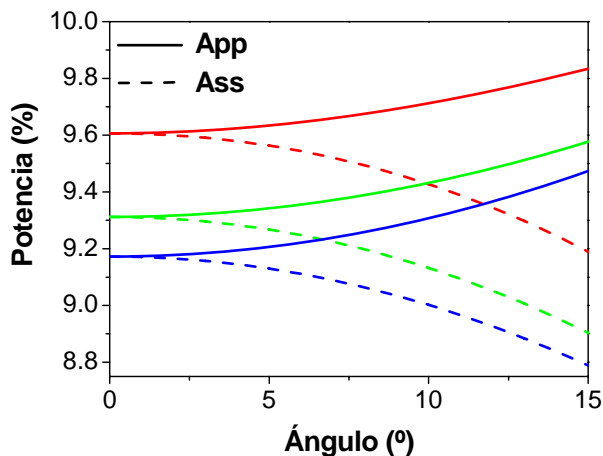


Figura 3.31. Simulación teórica del porcentaje de luz absorbida para tres longitudes de onda diferentes: rojo, verde y azul. Las líneas continuas de los diferentes colores muestran la componente perpendicular de la luz, mientras que las líneas discontinuas muestran la componente secante.

Por tanto, tal y como hemos venido viendo en la presente sección, la excitación fototérmica de micropalancas en líquidos puede verse mejorada en diferentes aspectos fundamentales:

- Los coeficientes de expansión térmica de las diferentes capas que componen la palanca deben ser lo más diferentes que sea posible.

- El efecto se maximiza cuando los espesores de ambas capas son similares.
- Si el láser modulado es polarizado, la polarización vertical presenta un máximo en la absorción en torno a los 60°.
- Dentro del espectro del visible, en igualdad de condiciones, la luz roja presenta una mayor absorción.

3.3.7. Conclusiones

En este trabajo se ha desarrollado el uso de la excitación fototérmica para la excitación selectiva de diferentes modos flexurales de vibración para una micropalanca en líquidos. Los resultados experimentales están sustentados por un modelo teórico que se compone de dos mecanismos para la activación óptica. El primer mecanismo está basado en la teoría del transporte de calor y tiene en cuenta la transformación de la energía térmica modulada en un incremento dependiente del tiempo de la temperatura local de la palanca. El segundo mecanismo consiste en la transformación del calentamiento local periódico en la vibración de la palanca a través del efecto bimetalico. La teoría es consistente con los resultados experimentales. En primer lugar, la fuerza de excitación ejercida sobre un modo de vibración dado se maximiza cuando la palanca se excita ópticamente en regiones con un máximo en la curvatura del perfil de la vibración. En segundo lugar, la fuerza de excitación decrece con la frecuencia de la modulación del láser de excitación. Esto produce una distorsión y un desplazamiento hacia menores frecuencias de los picos de resonancia, lo que es más pronunciado a bajas frecuencias. En tercer lugar, las ondas térmicas reflejadas juegan un papel importante para separaciones entre la posición de excitación y el extremo libre de la palanca menores que la longitud de difusión térmica.

La técnica de excitación fototérmica proporciona un método de excitación que no requiere un contacto físico con la palanca y que se asemeja a una excitación puntual para la excitación en líquidos. Los métodos de excitación puntuales permiten una identificación más fácil de la resonancia de la palanca sin la presencia de resonancias espurias como sucede en los métodos mecánico – acústicos, que son frecuentemente empleados. Sólo requiere la presencia de un recubrimiento metálico en una de las caras de la palanca, lo que se usa normalmente para aumentar la reflectividad cuando se utilizan métodos de detección óptica. Además, proporciona un método eficaz de excitación de modos de vibración altos, que ofrecen factores de calidad más elevados y frecuencias de resonancia mayores, aumentando la sensibilidad de las medidas dinámicas en AFM en líquidos y en biosensores basados en micropalancas.

SubApéndice A: Cálculo de la Amplitud y la Fase de la Onda Térmica Reflejada

La amplitud y la fase de las ondas reflejadas se calculan aplicando la ley de enfriamiento de Newton que produce la siguiente condición de contorno [11]

$$\left. \frac{\partial T}{\partial x} \right|_{x=L} = -\frac{h}{\lambda_{th}} T$$

Viene dada por la siguiente expresión [16]

$$re^{i\theta} = \exp \left[-2i \left(\frac{2\pi}{\lambda_{th}} (L - x_0) \right) \right] \left[\frac{-\frac{h}{\lambda_{th}} + \left(\frac{1}{\delta_{th}} + i \frac{2\pi}{\lambda_{th}} \right)}{\left(\frac{1}{\delta_{th}} + i \frac{2\pi}{\lambda_{th}} \right) + \frac{h}{\lambda_{th}}} \right] \quad (3.27)$$

Separando las partes reales e imaginarias en la ecuación 3.27 se obtiene,

$$\theta = \arctan \left[\frac{\frac{4\pi h}{\lambda_{th}^2}}{\left(\frac{1}{\delta_{th}} + \frac{h}{\lambda_{th}} \right)^2 + \left(\frac{2\pi}{\lambda_{th}} \right)^2} \right] \quad (3.28)$$

$$r = \frac{\left[\left[\left(\frac{1}{\delta_{th}} \right)^2 - \left(\frac{h}{\lambda_{th}} \right)^2 + \left(\frac{2\pi}{\lambda_{th}} \right)^2 \right]^2 + \left(\frac{4\pi h}{\lambda_{th}^2} \right)^2 \right]^{1/2}}{\left(\frac{1}{\delta_{th}} + \frac{h}{\lambda_{th}} \right)^2 + \left(\frac{2\pi}{\lambda_{th}} \right)^2} \quad (3.29)$$

SubApéndice B: Cálculo del Aumento de Temperatura en la Zona Iluminada

Calcularemos la amplitud de la onda térmica a lo largo de la palanca ΔT_0 , (ecuación 3.12) haciendo un balance de calor en la región iluminada $x = x_0$. La potencia óptica absorbida por la palanca debe ser igual a la pérdida de calor. Hay tres mecanismos de pérdida de calor: el calor perdido por conducción, el calor absorbido por el material de la palanca y el calor perdido a través de la superficie. El calor perdido por conducción por unidad de tiempo es,

$$P_1 = -W(\lambda_{th1}d_1 + \lambda_{th2}d_2) \left[\left. \frac{\partial T}{\partial x} \right|_{x=0^+} - \left. \frac{\partial T}{\partial x} \right|_{x=0^-} \right] \quad (3.30)$$

El calor absorbido por unidad de tiempo se puede escribir como,

$$P_2 = W(c_{p1}\rho_1d_1 + c_{p2}\rho_2d_2) \left. \frac{\partial T}{\partial x} \right|_{x=x_0} \Delta x \quad (3.31)$$

Donde Δx es el diámetro del haz del láser modulado sobre la palanca. Por último, el calor perdido por conducción a través de la superficie por unidad de tiempo es,

$$P_3 = W(h_1 + h_2)T(x = x_0)\Delta x \quad (3.32)$$

La potencia óptica absorbida, $P_0 \cos(\omega t)$, debe ser igual a la energía total perdida por unidad de tiempo,

$$P_0 \cos(\omega t) = W \Delta T_0 \cos(\omega t) \left[\begin{aligned} & \left[\frac{2}{\delta_{th}} (\kappa_1 d_1 + \kappa_2 d_2) + (h_1 + h_2) \Delta x \left(1 + r \exp\left(-2 \frac{x_0}{\delta_{th}}\right) \cos \gamma \right) - \right. \\ & \left. - (c_{p1} \rho_1 d_1 + c_{p2} \rho_2 d_2) \Delta x \omega \exp\left(-2 \frac{x_0}{\delta_{th}}\right) \sin \gamma \right] - \sin(\omega t) \left[\frac{4\pi}{\lambda_{th}} (\kappa_1 d_1 + \kappa_2 d_2) + (h_1 + h_2) \Delta x \exp\left(-2 \frac{x_0}{\delta_{th}}\right) \sin \gamma + \right. \\ & \left. + (c_{p1} \rho_1 d_1 + c_{p2} \rho_2 d_2) \Delta x \omega \left(1 + r \exp\left(-2 \frac{x_0}{\delta_{th}}\right) \cos \gamma \right) \right] \end{aligned} \right] \quad (3.33)$$

donde, $\gamma = \theta - \frac{4\pi x_0}{\lambda_{th}}$.

Por tanto, la amplitud de la onda térmica se puede escribir como,

$$\Delta T_0 = \frac{|P_0|/W}{\sqrt{\left[\frac{2}{\delta_{th}} (\kappa_1 d_1 + \kappa_2 d_2) + (h_1 + h_2) \Delta x \left(1 + r \exp\left(-2 \frac{x_0}{\delta_{th}}\right) \cos \gamma \right) - \right.}^2 + \left[\frac{4\pi}{\lambda_{th}} (\kappa_1 d_1 + \kappa_2 d_2) + (h_1 + h_2) \Delta x \exp\left(-2 \frac{x_0}{\delta_{th}}\right) \sin \gamma + \right.}^2} \quad (3.34)$$

$$\left. - (c_{p1} \rho_1 d_1 + c_{p2} \rho_2 d_2) \Delta x \omega \exp\left(-2 \frac{x_0}{\delta_{th}}\right) \sin \gamma \right]^2 + \left[(c_{p1} \rho_1 d_1 + c_{p2} \rho_2 d_2) \Delta x \omega \left(1 + r \exp\left(-2 \frac{x_0}{\delta_{th}}\right) \cos \gamma \right) \right]^2}$$

De este modo, podemos hacer el estudio del aumento de la temperatura de la palanca en la región iluminada por el láser modulado. Tal y como puede apreciarse en la siguiente gráfica (fig. 3.32) apenas hay variación del aumento de la temperatura en la palanca con el parámetro de transmisión de calor, h , sin embargo, decae exponencialmente con la frecuencia

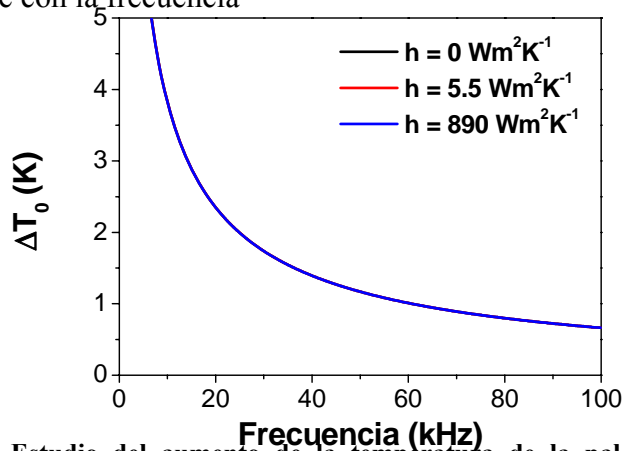


Figura 3.32. Estudio del aumento de la temperatura de la palanca en la región iluminada por el láser modulado para diferentes valores del coeficiente de transmisión de calor de la palanca con el medio. Las tres curvas están superpuestas indicando la poca variación en función de la frecuencia.

Sin embargo, podemos estudiar este aumento de la temperatura a una frecuencia fija, por ejemplo 10kHz y focalizado en el centro de la palanca, y ver como varía en función de h , con lo que tenemos una dependencia casi lineal, tal y como se aprecia en la siguiente curva (fig. 3.33)

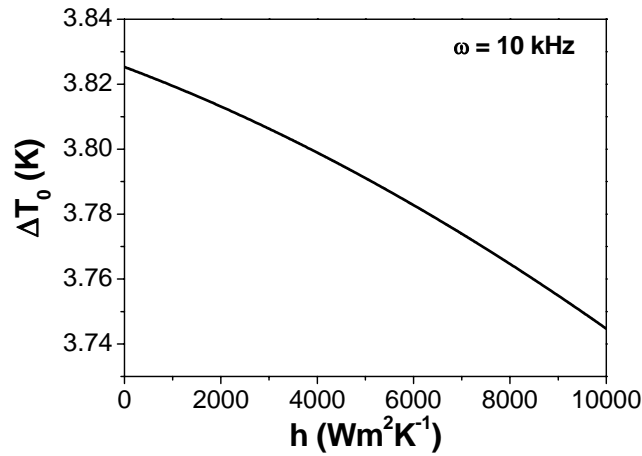


Figura 3.33. Variación del aumento de la temperatura de la palanca en la región iluminada por el láser modulado para una frecuencia fija, 10kHz, en función del coeficiente de transmisión de calor con el medio.

Por último, podemos ver como afecta el grado de focalización del spot modulado sobre la palanca. Fijamos la frecuencia, por ejemplo a 10kHz, y vemos como varía el aumento de temperatura en función del tamaño del haz, fig. 3.34

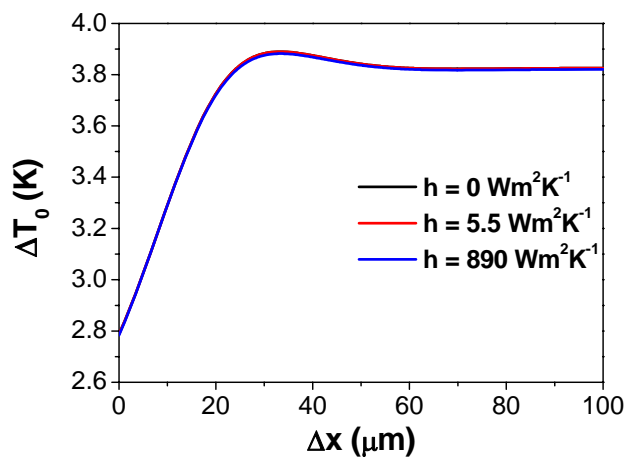


Figura 3.34. Estudio del aumento de la temperatura de la palanca en la región iluminada por el láser modulado para diferentes valores del coeficiente de transmisión de calor de la palanca con el medio en función del tamaño del spot. Las tres curvas están superpuestas indicando la poca variación en función de la frecuencia.

En esta simulación, figura 3.34, se ha fijado el punto de focalización del haz modulado en la mitad de la palanca, y se aumenta de forma simétrica hacia ambos lados.

De nuevo vemos que el intercambio de calor con el medio, los valores escogidos corresponden respectivamente al vacío, el aire y el agua, apenas tiene relevancia en el aumento puntual de la temperatura. Lógico si pensamos que este parámetro afecta principalmente a la difusión de calor a lo largo de la superficie.

Además, podemos ver que hay un punto óptimo de focalización, que se corresponde con la anchura de la palanca, que recordemos que en esta aplicación se ha fijado en 20 μ m. A partir de este máximo, el aumento de temperatura se hace menos acusado y se estabiliza en torno a las 60-70 μ m, lo que nos indica que el resultado es el mismo cuando enfocamos sobre toda la palanca o sólo sobre la mitad.

REFERENCIAS

1. J. E. Sader “Frequency response of cantilever beams immersed in viscous fluids with applications to the atomic force microscope” J. Appl. Phys. **84**, 64 (1998).
2. M. R. Paul, M. T. Clark and M. C. Cross “The stochastic dynamics of micron and nanoscale elastic cantilevers in fluid: fluctuations from dissipation” Nanotechnology, **17**, 4502 (2006).
3. M. Papi, G. Arcovito, M. De Spirito, M. Vassalli and B. Tiribilli “Fluid viscosity determination by means of uncalibrated atomic force microscopy cantilevers” Appl. Phys. Lett., **88**, 194102 (2006).
4. T. E. Schäffer, J. P. Cleveland, F. Ohnesorge, D. A. Walters, P. K. Hansma “Studies of vibrating atomic force microscope cantilevers in liquid” J. Appl. Phys. **80**, 3623 (1996).
5. J. Kokavecz, A. Mechler “Investigation of fluid cell resonances in intermittent contact mode atomicforce microscopy” Appl. Phys. Lett. **91**, 0.23113 (2007).
6. X. Xu, A. Raman “Comparative dynamics of magnetically, acoustically, and Brownian motion driven microcantilevers in liquids” J. Appl. Phys. **102**, 034303 (2007).
7. W. Han, S. M. Lindsay, T. Jing “A magnetically driven oscillating probe microscope for operation in liquids” Appl. Phys. Lett. **69**, 4111 (1996).
8. Ch. Rankl, V. Pastushenko, F. Kienberger, C. M. Stroh, P. Hinterdorfer “Hydrodynamic damping of a magnetically oscillated cantilever close to a surface” Ultramicroscopy **100**, 301 (2004).
9. S. Rast, C. Wattinger, U. Gysin, E. Meyer “Dynamics of damped cantilevers” Rev. Sci. Instrum. **71**, 2772 (2000).
10. M. Schubert “Polarization-dependent optical parameters of arbitrarily anisotropic homogeneous layered systems” Phys. Rev. B **53**, 4265 (1996).
11. H. Gröber, S. Erk, U. Grigull “*Die Grundgesetze der Wärmeübertragung*” Ed. Springer-Verlag OHG., Berlin-Göttingen-Heidelberg, 3rd Edition (1954).
12. G. C. Ratcliff, D. A. Erie, R. Superfine “Photothermal modulation for oscillating mode atomic force microscopy in solution” Appl. Phys. Lett. **72**, 1911 (1998).
13. R. Sandberg, W. Svendsen, K. Molhave, A. Boisen “Temperature and pressure dependence of resonance in multi-layer microcantilevers” J. Micromech. Microeng. **15**, 1454 (2005).

14. J. W. Yi, W. Y. Shih, W.-H. Shih “Effect of length, width, and mode on the mass detection sensitivity of piezoelectric unimorph cantilevers” J. Appl. Phys. **91**, 1680 (2002).
15. S. S. Oueini, A. H. Nayfeh, J. R. Pratt “A Review of Development and Implementation of an Active Nonlinear Vibration Absorber” Arch. Appl. Mech. **69**, 585 (1999).
16. D. Ramos, J. Tamayo, J. Mertens, M. Calleja “Photothermal excitation of microcantilevers in liquids” J. Appl. Phys. **99**, 124904 (2006).

Capítulo 4

Medidas en Tiempo Real en Líquidos: Excitación y Auto – Excitación Fototérmica

Este Capítulo hace uso de las herramientas teóricas y experimentales desarrolladas en el capítulo anterior para mejorar la sensibilidad de la medida de la frecuencia de resonancia de una micropalanca inmersa en un líquido. Tal y como se describió en su momento, podemos relacionar el aumento de la densidad del medio con el desplazamiento de la frecuencia de resonancia de la palanca, y el aumento de la viscosidad con el decrecimiento del factor de calidad. Por lo tanto, podemos monitorizar en tiempo real las propiedades reológicas del medio midiendo la resonancia de la micropalanca. La validación experimental se realiza midiendo el cambio en las propiedades reológicas que implica la mezcla de un 1% de glicerol en agua. Estos cambios se miden utilizando dos técnicas diferentes: excitación fototérmica de la micropalanca, lo que, tal y como veremos, hace disminuir el ruido respecto a la medida del espectro termomecánico; y la auto-excitación fototérmica, que proporciona una resolución en la medida de la frecuencia de resonancia sin precedentes, con una resolución de 5ppm con un ancho de banda de 1Hz.

4.1. INTRODUCCIÓN

Tal y como hemos visto a lo largo de los capítulos precedentes, en los últimos años el uso de sistemas basados en micropalanca como sensores se ha visto incrementado en muchos campos, tanto en su modo estático como en el modo dinámico. Como se recoge en la literatura, el comportamiento dinámico de la palanca está íntimamente relacionado con las propiedades del fluido que la rodea (densidad y viscosidad). Por tanto, la señal final será el resultado del acoplamiento entre el medio y la geometría de la palanca. De este modo, los resonadores nanomecánicos se pueden utilizar como sensores biológicos y/o reológicos.

Los avances en las técnicas de nanofabricación han permitido obtener resonadores cada vez más pequeños con diferentes geometrías, por ejemplo palancas o puentes. Estas vigas sujetas por uno o dos extremos se fabrican mediante técnicas de nanolitografía y son las responsables del gran aumento en los niveles de sensibilidad aumentando hasta el rango de los attogramos. Además, las técnicas de fabricación de abajo hacia arriba (“bottom up” en inglés) proporcionan la posibilidad de controlar el crecimiento de estructuras tales como nanotubos de carbono y nanohilos de silicio que tienen unas frecuencias de resonancia del orden de megahercios. Se espera que la utilización de este tipo de dispositivos rebase los límites de sensibilidad alcanzados hasta la fecha en experimentos que utilizan micropalanca en la detección de masa añadida. Sin embargo, la detección de la vibración a escalas tan pequeñas constituye todavía un gran desafío.

Hasta la fecha, la mayor parte de los experimentos basados en resonadores nanomecánicos se han realizado en vacío, donde la micropalanca vibra a su frecuencia de resonancia de forma eficiente debido a su alto factor de calidad, normalmente de varios miles. De este modo, este tipo de experimentos requieren medidas *ex situ* antes y después de la inmersión del resonador en el fluido que contiene la muestra biológica. El principal inconveniente de este tipo de medidas es que la extraordinaria resolución de la medida de la frecuencia conseguida en vacío se desaprovecha por la adsorción inespecífica de moléculas y solutos presentes en el medio biológico. Esta técnica de medición no permite además la medida de las propiedades reológicas del fluido ni de la cinética de la reacción de reconocimiento molecular. Estas limitaciones se pueden solventar midiendo en tiempo real en el líquido en cuestión, pero el bajo factor de calidad que presentan los resonadores en este medio degrada enormemente la sensibilidad. Se han propuesto diferentes técnicas con el fin de aumentar la resolución de la medida. Una de ellas consiste en utilizar un microcanal como resonador, encapsulando el conjunto en vacío. De este modo se consigue aproximadamente el mismo factor de calidad que en vacío, no igual porque aumenta el rozamiento interno, mientras fluye el líquido sometido a estudio a través del canal. Sin embargo, las limitaciones impuestas por la geometría de los microcanales hacen que la frecuencia de resonancia del dispositivo sea demasiado baja como para alcanzar el grado de sensibilidad de las medidas *ex situ*.

En el presente capítulo se hace un análisis de los resultados obtenidos a partir de la medida en tiempo real de la vibración de una micropalanca en un flujo que cambia sus propiedades reológicas. La medida se realiza primero en agua pura, haciendo pasar después una mezcla que contiene el 1% en masa de glicerol. Analizaremos los resultados midiendo la frecuencia de resonancia utilizando dos técnicas diferentes: la técnica de la excitación fototérmica descrita en el capítulo anterior y, combinándola con un lazo cerrado de realimentación, para obtener la auto-excitación de la micropalanca.

4.2. MEDIDA EN TIEMPO REAL DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS DEL MEDIO: EXCITACIÓN FOTOTÉRMICA

Tal y como ha sido explicado anteriormente, la frecuencia de resonancia de las micropalanca es extremadamente sensible a las propiedades del medio que las rodea. Este hecho ha sido utilizado para la determinación de las propiedades reológicas de líquidos. A continuación se va a proceder a la utilización de la técnica de la excitación selectiva de modos superiores de vibración de micropalanca en líquidos [1] para la detección en tiempo real de un cambio de densidad del medio [2].

4.2.1. Teoría

En la sección 1 del capítulo 3 se desglosó la interacción hidrodinámica del medio con la micropalanca en dos efectos: el desplazamiento de la resonancia hacia frecuencias más bajas y la disminución del factor de calidad. Comenzaremos, por tanto, con el desplazamiento de la frecuencia de resonancia. Teniendo en cuenta las ecuaciones 3.6 y 3.7 se puede hacer una estimación teórica del cambio en frecuencia esperado, $\Delta\omega_n$

$$\frac{\Delta\omega_n}{\omega_n^{water}} = \sqrt{\frac{m_n^{water}}{m_n^{glycerol}}} - 1 \quad (4.1)$$

donde m_n^{water} y $m_n^{glycerol}$ son respectivamente la masa añadida de la palanca vibrando en agua y la mezcla glicerol – agua, y ω_n^{water} la frecuencia, dependiente del modo (expresado mediante el subíndice n), de la palanca vibrando en agua pura. Recordemos en este punto que la masa añadida de la palanca vibrando en un fluido depende tanto de las propiedades de la palanca como de las del medio, ecuación 3.7

$$m_n^{load} = \frac{3}{k_n^4} m_c \left[1 + \frac{4\rho\omega^2 L}{m_c \pi} \text{Re}[\Gamma_{rect}(\omega)] \right] \quad (4.2)$$

donde ρ es la densidad del medio, cuya viscosidad está incluida en la parte real de la función hidrodinámica que depende del número de Reynolds.

En el Capítulo 3 vimos cómo la frecuencia de resonancia de la micropalanca disminuye drásticamente al pasar de aire a líquido. Esto se debe al aumento de la densidad, y viscosidad, del medio, de tal forma que podemos hacer el cálculo de la variación relativa de frecuencia de resonancia de la micropalanca vibrando en un flujo cuyas propiedades reológicas son dependientes del tiempo. De este modo, se estima teóricamente una variación relativa de la frecuencia de resonancia de, aproximadamente -0.3% al pasar de agua pura a una mezcla que contiene un 1% de glicerol. Este cálculo se ha hecho teniendo en cuenta que la mezcla con un 1% de glicerol en masa supone un aumento de la densidad del 0.13% y de la viscosidad en 1.27%.

El hecho de que la palanca vibre en un medio con una densidad y viscosidad mayores implica que el coeficiente de rozamiento con dicho fluido aumente. Esto se traduce, junto con el aumento de la masa añadida por la columna de agua sobre la palanca vibrando flexuralmente, en un descenso en el factor de calidad. Esta disminución se puede calcular teóricamente a partir de las ecuaciones 3.6 y 3.7,

$$\frac{\Delta Q}{Q^{water}} = \frac{\gamma^{water}}{\gamma^{glycerol}} \sqrt{\frac{m_n^{glycerol}}{m_n^{water}}} - 1 \quad (4.3)$$

donde Q^{water} es el factor de calidad inicial, γ^{water} el coeficiente de rozamiento en el agua pura y $\gamma^{glycerol}$ el rozamiento en la mezcla. Introduciendo los aumentos en la densidad y viscosidad que conlleva la muestra, se puede estimar un variación relativa en el factor de calidad de aproximadamente -1.1%.

4.2.2. Montaje Experimental

Las micropalancas utilizadas para este experimento en tiempo real son las mismas que las descritas anteriormente para la implementación de la excitación fototérmica. Son micropalancas comerciales, Olympus™ de 200μm de largo, 20μm de ancho y 800nm de espesor, recubiertas con una capa de oro de 70nm de espesor sobre otra de cromo de 5nm para mejorar la adherencia en líquido.

El spot del láser modulado se enfoca a 20μm de la base de la palanca. A continuación se muestra una simulación del aumento de temperatura sobre la palanca en 3D de acuerdo con la expresión deducida en el capítulo anterior, ecuación 3.12, para una sola dimensión.

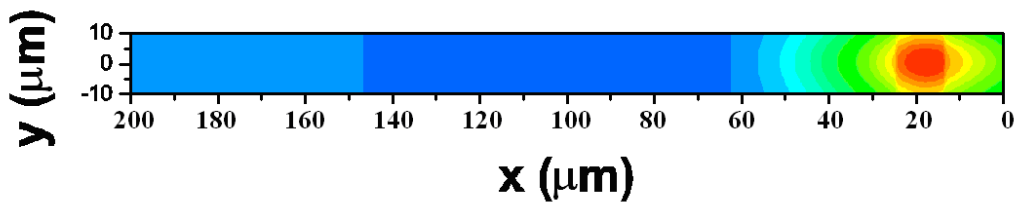


Figura 4.1. Simulación teórica del aumento de temperatura de una palanca de nitruro de silicio de 200μm de largo, 20μm de ancho y 800nm de espesor, recubiertas con una capa de oro de 70nm de espesor cuando un haz láser modulado a una frecuencia de 10kHz ilumina una región situada a una distancia de 20μm del extremo fijo que se encuentra situado en $x = 0$.

El sistema de detección experimental empleado en esta ocasión es ligeramente diferente al empleado en la caracterización del efecto fototérmico, sección 3.1 del Capítulo 3. El láser de excitación emite en el rojo, exactamente igual que el utilizado anteriormente, mientras que el láser utilizado para la detección del movimiento de la micropalanca emite en el verde, 532nm (Edmund Optics Ltd. 5mW). Utilizaremos un filtro de absorción centrado en el rojo para separar ambas longitudes de onda y evitar que entren las dos en el fotodiodo. En la siguiente fotografía, figura 4.2, se pueden ver los dos láseres enfocados sobre la palanca.

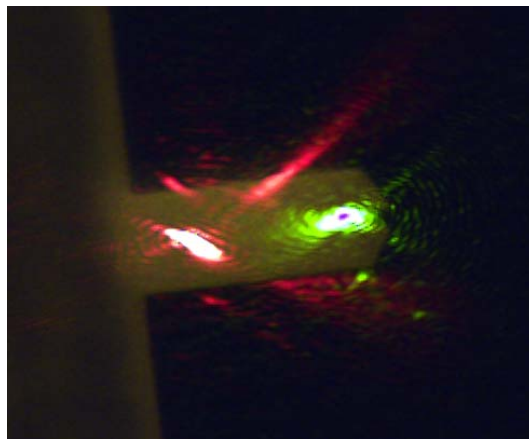


Figura 4.2. Micrografía óptica que muestra la micropalanca empleada en la detección del cambio en las propiedades reológicas del medio. Sobre ella se pueden ver dos spots láser de diferente color, el verde se utiliza para medir la posición y el rojo, modulable, para la excitación óptica.

La posición del láser de excitación en la figura 4.2 permite la excitación simultánea de los primeros modos de vibración flexural. Si bien es cierto que, tal y como se describió en el Capítulo 3, cada modo tiene un punto óptimo de excitación a lo largo de la micropalanca, el tamaño del spot es lo suficientemente grande como para abarcar varios. En concreto, vamos a excitar y medir simultáneamente el segundo, tercer y cuarto modo.

El chip que contiene la palanca se coloca en una celda de fluidos comercial de AFM (Veeco) fabricada en vidrio. Este tipo de celdas tiene dos aperturas que permiten un flujo controlado de líquido. El flujo se fija a 0.01 ml/min y se mantiene constante durante todo el experimento gracias a una bomba de jeringa. La frecuencia de resonancia se mide en tiempo real durante todo el proceso. Esta curva se puede separar entonces en tres etapas: en un primer momento la palanca está vibrando en agua, en la segunda fase vibra en la mezcla de agua-glicerol, en la tercera la mezcla ha salido por completo de la celda y la palanca vuelve a oscilar en agua.

4.2.3. Resultados Experimentales: Cambio en la Frecuencia de Resonancia

El sistema experimental permite la sincronización de la señal de excitación con la adquisición, por lo que podemos hacer diferentes barridos en frecuencia separando la señal de adquisición de cada uno de ellos. En la práctica esto supone que podemos separar los diferentes modos flexurales de vibración de la palanca, sección 3.3 del Capítulo 3. Comenzaremos con el análisis de los resultados obtenidos al medir en tiempo real el cambio de frecuencia de resonancia del segundo modo flexural de la palanca. En la siguiente figura, fig. 4.3.a, podemos ver la excitación del segundo modo flexural en agua, junto con la monitorización en tiempo real del cambio de su frecuencia de resonancia, figura 4.3.b.

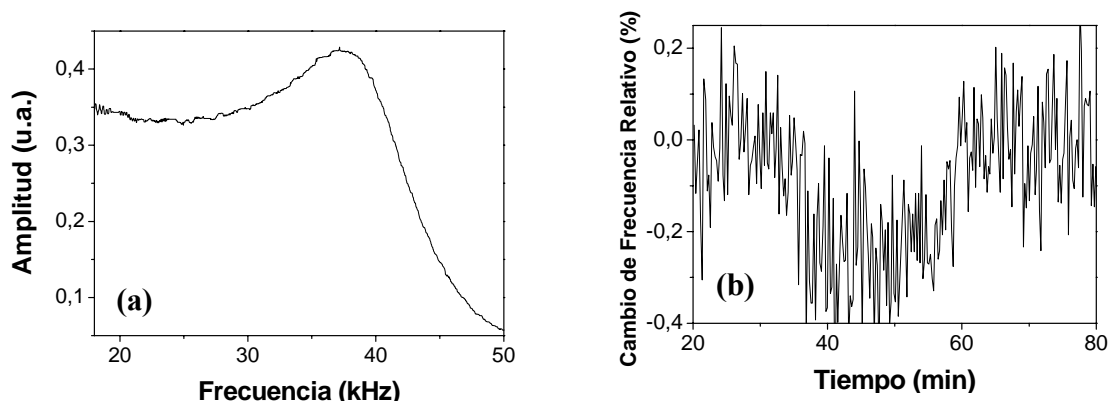


Figura 4.3. (a) Curva de amplitud frente a la frecuencia de resonancia del segundo modo flexural de vibración en agua empleando la excitación fototérmica. (b) Monitorización en tiempo real del cambio de su frecuencia de resonancia.

En la figura 4.3.b podemos ver que la frecuencia de resonancia se mantiene aproximadamente constante cuando la micropalanca está vibrando en agua. En el minuto 35 aproximadamente entra en la celda la mezcla de agua y glicerol, que presenta una densidad y una viscosidad mayores, esto hace que la masa efectiva de la palanca en el líquido sea mayor y disminuya su frecuencia de resonancia, tal y como preveía la teoría presentada en la sección anterior. Al salir el líquido más denso, minuto 60 aproximadamente, la frecuencia de resonancia recupera su valor inicial, indicando que no se ha adherido nada de glicerol sobre la palanca.

Uno de los métodos utilizados tradicionalmente en la literatura para aumentar la sensibilidad de la medida de la frecuencia de resonancia es el uso de modos superiores de vibración. Una de las ventajas de la excitación fototérmica es que permite la excitación eficiente de modos de vibración superiores. Se ha monitorizado en el mismo experimento la variación de frecuencia de los modos tercero y cuarto, figuras 4.4 y 4.5.

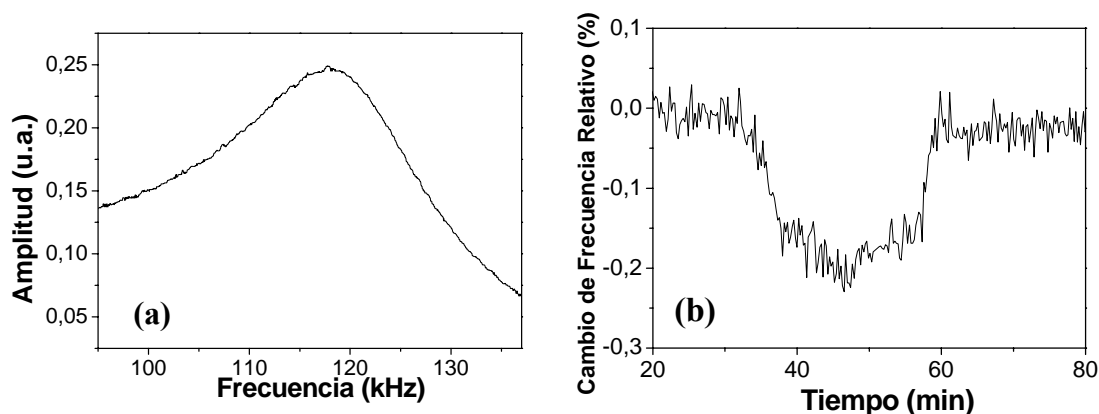


Figura 4.4. (a) Curva de amplitud frente a la frecuencia de resonancia del tercer modo flexural de vibración en agua empleando la excitación fototérmica. (b) Monitorización en tiempo real del cambio de su frecuencia de resonancia.

Tal y como se puede apreciar en la figura anterior, el factor de calidad más elevado del tercer modo permite medir la frecuencia de resonancia con mayor sensibilidad. No obstante, tal y como se desprende de las ecuaciones 4.1–4.3, vemos que el desplazamiento relativo de la frecuencia de resonancia se mantiene inalterado con el índice del modo utilizado. Experimentalmente comprobamos este hecho comparando los cambios relativos representados en las figuras 4.3–4.4.

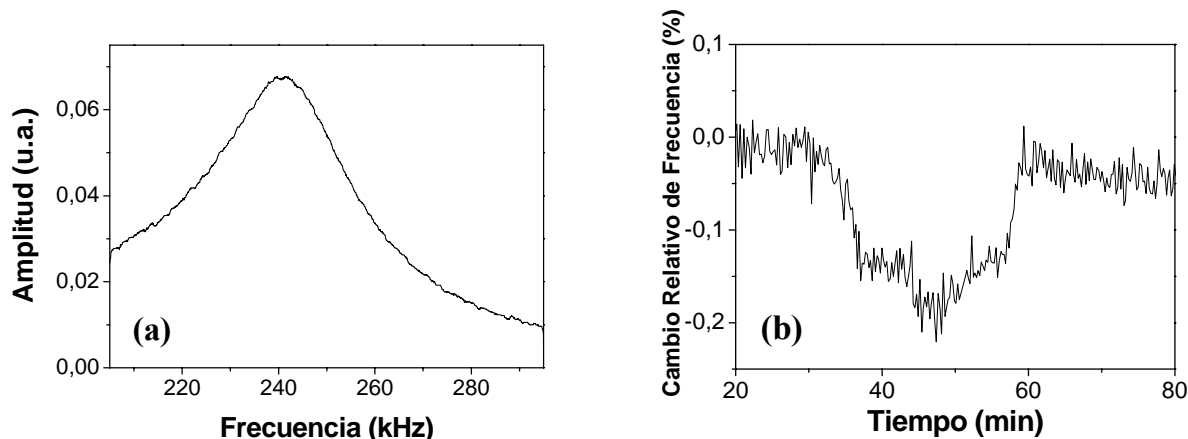


Figura 4.5. (a) Curva de amplitud frente a la frecuencia de resonancia del cuarto modo flexural de vibración en agua empleando la excitación fototérmica. (b) Monitorización en tiempo real del cambio de su frecuencia de resonancia.

Tal y como hemos mencionado anteriormente, los cambios relativos de la frecuencia de resonancia de la micropalanca observados experimentalmente son iguales para todos los modos monitorizados dentro del error experimental. El segundo modo presenta un cambio en la frecuencia relativo de $-0.2 \pm 0.1\%$, sin embargo, el ruido en frecuencia del tercer y cuarto modo es menor y se puede estimar un cambio en la frecuencia de $-0.19 \pm 0.01\%$.

4.2.4. Resultados Experimentales: Cambio en el Factor de Calidad

El factor de calidad se puede evaluar experimentalmente del mismo modo que la frecuencia de resonancia. La evaluación experimental del factor de calidad se lleva a cabo en tiempo real mediante la adquisición del espectro de frecuencias de la oscilación de la micropalanca. A partir de la relación entre la anchura a la mitad de altura del pico y de la frecuencia de resonancia llegamos a obtener un valor aproximado del factor de calidad, sección 2.7. El único problema reside en la pérdida de simetría que conlleva la excitación fototérmica. Por este motivo, el único modo en el que el factor de calidad está bien definido es el cuarto, donde la dependencia con la frecuencia no es tan acusada. Podemos medir, por tanto, la variación en tiempo real del factor de calidad del cuarto modo de vibración de la palanca en el flujo, con el resultado que se ilustra en la figura 4.6.

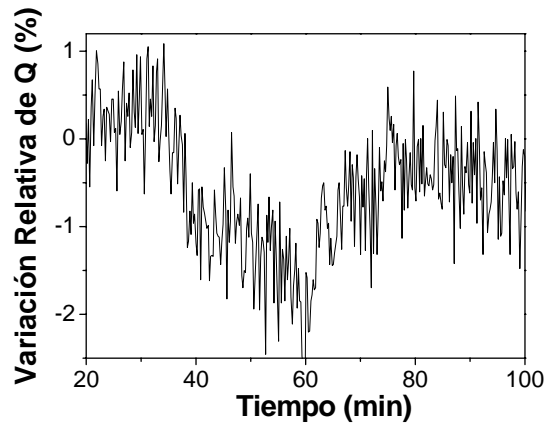


Figura 4.6. Medida experimental de la variación relativa en tiempo real del factor de calidad del cuarto modo flexural de una palanca vibrando en un medio que pasa del agua a una mezcla con un 1% en masa de glicerol y vuelve a agua pura.

Experimentalmente, el valor medido de la variación del factor de calidad del cuarto modo flexural de vibración es de $-2 \pm 1\%$. Este valor es compatible con la predicción teórica. Debe notarse además que es un orden de magnitud mayor que la variación relativa de frecuencia de resonancia. Esto se debe a que el factor de calidad depende en gran medida de la viscosidad del medio [3 – 5] que, como hemos visto es un orden de magnitud mayor que el cambio en la densidad. Por lo tanto, midiendo tanto el cambio relativo de frecuencia de resonancia como de factor de calidad podemos obtener una mayor información acerca de las propiedades reológicas del medio.

4.3. MEDIDA EN TIEMPO REAL DE LAS PROPIEDADES REOLÓGICAS DEL MEDIO: AUTO-EXCITACIÓN FOTOTÉRMICA

Tal y como hemos visto hasta el momento, la vibración a escala nanométrica de diferentes estructuras flexibles se puede ver alterada por numerosas interacciones. Este tipo de interacciones son, por ejemplo, cambios en la temperatura externa (véase Apéndice C), aplicación de campos eléctricos o magnéticos (véase Apéndice A), adsorción de moléculas en la superficie (Capítulos 3 y 4) o cambios en las propiedades del fluido que rodean la palanca, como por ejemplo la densidad y la viscosidad. Esta íntima conexión entre las propiedades del medio y el resonador es la base sobre la que funcionan las microscopías de fuerzas atómicas [6] y más recientemente sensores basados en micropalancas para detección biológica y química o la medida de las propiedades reológicas de distintas clases de fluidos [7].

La sensibilidad de estas aplicaciones depende en gran medida de la tasa de energía disipada por el resonador. Mediremos esta disipación de energía a través del factor de calidad, que recordemos que se puede escribir como

$$Q = 2\pi \frac{W_0}{W_{dis}} \quad (4.4)$$

donde W_0 y W_{dis} son la energía almacenada y disipada por ciclo de oscilación respectivamente [8]. La conexión entre la disipación y la sensibilidad viene del hecho de que el factor de calidad se puede escribir también como

$$Q \approx \sqrt{3} \frac{\omega_0}{\Delta\omega_{fwhm}} \quad (4.5)$$

donde ω_0 es la frecuencia angular de resonancia y $\Delta\omega_{fwhm}$ es la anchura del pico a la mitad de la altura [9].

En el caso de las micropalanca vibrando en un fluido podemos considerar que la mayor fuente de ruido vendría de la contribución del rozamiento viscoso, de ahí que los mayores logros en el campo de los microscopios de fuerzas atómicas y sensores basados en micropalanca se hayan logrado en ultra – alto vacío [10 – 11] donde el factor de calidad es del orden de $10^3 - 10^4$. El factor de calidad decrece en aire hasta 20 – 500 [13, 14] y en líquidos hasta 1 – 5 [15, 16]. Este valor del factor de calidad tan bajo en líquidos supone una degradación de la sensibilidad de los resonadores nanomecánicos para obtener una información más detallada acerca de la estructura y funcionalidad de los sistemas biológicos y para el desarrollo de biosensores y reómetros sensibles que trabajen en tiempo real.

En la presente sección se propone una técnica experimental para medir la frecuencia de resonancia de osciladores nanomecánicos en líquido basándonos en la auto – excitación fototérmica de una micropalanca a través de un esquema de realimentación positiva en el régimen de saturación [18 – 20]. Con el uso de esta técnica logramos una resolución en frecuencia del orden de una parte por millón. Con el uso de cualquier sistema de realimentación se persigue la modificación del sistema dinámico con el fin de crear un sistema diferente. Este tipo de esquemas se utilizan en diferentes áreas como por ejemplo caos, mecánica estadística, óptica, mecánica cuántica [21 – 23]. En el campo de los sensores nanomecánicos, los sistemas de realimentación se utilizan para aumentar la sensibilidad de la medida en líquidos. Para ello se excita la palanca con una fuerza que es proporcional a su velocidad con el fin de contrarrestar los efectos del rozamiento viscoso con el medio [24]. Utilizando esta técnica se ha logrado resolución molecular con el AFM en líquidos [19, 25], así como resultados prometedores en el campo de la detección *in situ* de moléculas biológicas mediante el uso de resonadores [26, 27]. Otra aplicación interesante de esta técnica que ha aparecido recientemente en la literatura es la auto – excitación del movimiento de un solo electrón, lo que abre la puerta de la medida del momento magnético de partículas individuales [28]. Sin embargo, a pesar de estas importantes aplicaciones, todavía no se ha aclarado la forma en la que se cambian las propiedades físicas del resonador y la influencia de los parámetros de la realimentación en la resolución en frecuencia del sistema [29, 30].

4.3.1. Teoría

En un ciclo de realimentación utilizado para aumentar el factor de calidad del resonador la salida del sensor que mide la amplitud de oscilación se amplifica mediante un amplificador de ganancia variable una cantidad denominada ganancia, G , y se desfasa mediante un desfasador ϕ radianes. Esta señal se introduce de nuevo en el ciclo de oscilación mediante un actuador que genera una fuerza sobre la palanca cerrando el

lazo de auto-excitación. Esta fuerza excitadora se puede aplicar de muchas formas diferentes, pudiendo ser mecánica, magnética, electrostática o, como en nuestro caso, fototérmicamente.

El lazo cerrado actúa en la misma fuente del ruido del sistema, esto es, en las fluctuaciones termomecánicas originadas por colisiones de las partículas del medio con la palanca y el ruido eléctrico proveniente del sensor. Consideraremos sin embargo que las fluctuaciones termomecánicas dominan sobre el resto de las fuentes de ruido con el fin de simplificar los resultados. Para una palanca moviéndose en un fluido, ya vimos en la sección 2.7 del Capítulo 1 que la transformada de Fourier de la ecuación del movimiento se puede aproximar por la de un oscilador armónico forzado

$$\left[\frac{k}{m} - \omega^2 \right] \hat{z}(x, \omega) = \hat{F}(x, \omega) \quad (4.6)$$

donde m es la masa efectiva del resonador, k la constante de elástica de la palanca, ω la frecuencia de resonancia y $\hat{F}(x, \omega)$ la fuerza externa aplicada, que en este caso se puede separar a su vez en tres contribuciones

$$\hat{F}(x, \omega) = \hat{F}_{hydro}(x, \omega) + \hat{F}_{th}(x, \omega) + \hat{F}_{fb}(x, \omega) \quad (4.7)$$

siendo $\hat{F}_{th}(x, \omega)$ las fuerzas aleatorias de Langevin, $\hat{F}_{hydro}(x, \omega)$ la fuerza hidrodinámica y $\hat{F}_{fb}(x, \omega)$ la fuerza que se introduce mediante el lazo de realimentación.

Tal y como vimos en el capítulo anterior podemos sustituir en la expresión 4.5 la fuerza hidrodinámica por el efecto que produce en las propiedades de la palanca. Recordemos que el efecto del rozamiento viscoso se puede dividir en dos partes, por un lado aparece una masa inercial correspondiente a la columna de líquido que tiene que mover la palanca en su oscilación, m_{load} , y por otro la aparición del rozamiento viscoso con el medio, γ . De este modo, podemos escribir la ecuación de movimiento efectiva de la palanca oscilando en un fluido como

$$\left[m_{load}(\omega) \frac{d^2}{dt^2} + \gamma(\omega) \frac{d}{dt} + k \right] z(t) = F_{th}(t) + F_{fb}(z) \quad (4.8)$$

donde m_{load} y γ están descritas por las relaciones 3.6 y 3.7. La frecuencia de resonancia vendrá dada por $\omega_0 = (k/m_{load})^{1/2}$ y el factor de calidad por $Q = m_{load}\omega_0/\gamma$.

La densidad espectral de la función de autocorrelación correspondiente a las fuerzas aleatorias de Langevin viene dada por $\Psi_{th} = 4\gamma k_B T$, donde k_B es la constante de Boltzmann y T la temperatura absoluta [31, 32].

Con el fin de simplificar la interpretación de los resultados supondremos que la realimentación está limitada a una zona estrecha alrededor de la frecuencia de resonancia. La fuerza que se introduce a través del lazo de realimentación se puede escribir como

$$F_{fb}(z) = G e^{i\varphi} z(t) \quad (4.9)$$

Para las oscilaciones sostenidas en el tiempo, esto es aquellas en las que la fuerza de realimentación es menor que la máxima fuerza tolerada por el agente que ejerce dicha fuerza, la respuesta del resonador viene dada por su susceptibilidad mecánica [9]

$$X_{eff}(\omega) = \frac{1}{(k - G \cos \varphi) - m_{load} \omega^2 + i(\gamma \omega - G \sin \varphi)} \quad (4.10)$$

Ajustando la fase de tal modo que el desfase entre la señal de entrada al lazo y la salida sea $\varphi = \pi/2$, se reduce la constante de rozamiento efectiva a

$$\gamma_{eff} \cong \gamma - \frac{G}{\omega_0} \quad (4.11)$$

sin que haya ningún cambio en la frecuencia natural de oscilación de la palanca. Teniendo en cuenta la definición del factor de calidad a partir del ancho de línea, ecuación 4.5, podemos ver que la anchura del pico se reduce a $\sim \omega_0/Q_{eff}$, donde el factor de calidad efectivo viene dado por $Q = m_{load} \omega_0 / \gamma_{eff}$, de acuerdo con el resultado teórico alcanzado en la sección 2.7 del Capítulo 2.

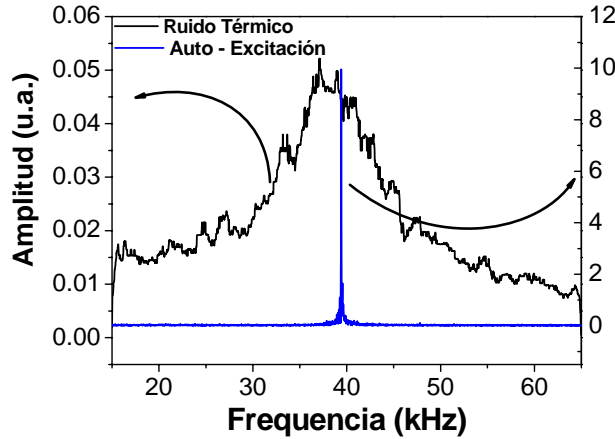


Figura 4.7. Espectro de vibración de la palanca oscilando en agua con el lazo de realimentación abierto (curva negra) y cerrado (curva azul).

La figura 4.7 muestra las diferencias existentes entre la medida del ruido de la palanca con el lazo de realimentación abierto, curva negra, lo que se conoce como ruido térmico de la palanca y con el lazo de realimentación cerrado, curva azul. Se trata de una medida experimental utilizando como fuerza excitadora la excitación fototérmica. En la próxima sección mostraremos el esquema utilizado para hacer esta medida. Nótese que cuando el lazo de realimentación está abierto el sistema pierde la mayor parte de la energía mecánica almacenada en apenas unos ciclos de oscilación, lo que lleva a un factor de calidad muy bajo, es decir, la curva de amplitud en función de la frecuencia es muy ancha en torno a la resonancia de la palanca, línea negra en la figura 4.7.

Sin embargo, cuando el lazo está cerrado podemos ajustar la ganancia del sistema para lograr un factor de calidad cada vez más alto. Haciendo esto lograremos que el ancho de línea de nuestra curva de resonancia sea cada vez más estrecho. Además

la amplitud de oscilación aumenta dos órdenes de magnitud. Tal y como se desprende de la ecuación 4.8 podríamos aumentar la ganancia que suministramos al sistema hasta lograr un factor de calidad efectivo negativo. En este caso el sistema no sólo no perdería energía mecánica en cada ciclo de oscilación, sino que la amplitud crecería con el tiempo. La amplitud de oscilación continúa creciendo hasta alcanzar un régimen de saturación no lineal, el sistema alcanza entonces un estado de equilibrio cuyo espectro de amplitud exhibe un ancho de línea muy pequeño alrededor de la frecuencia de resonancia [18].

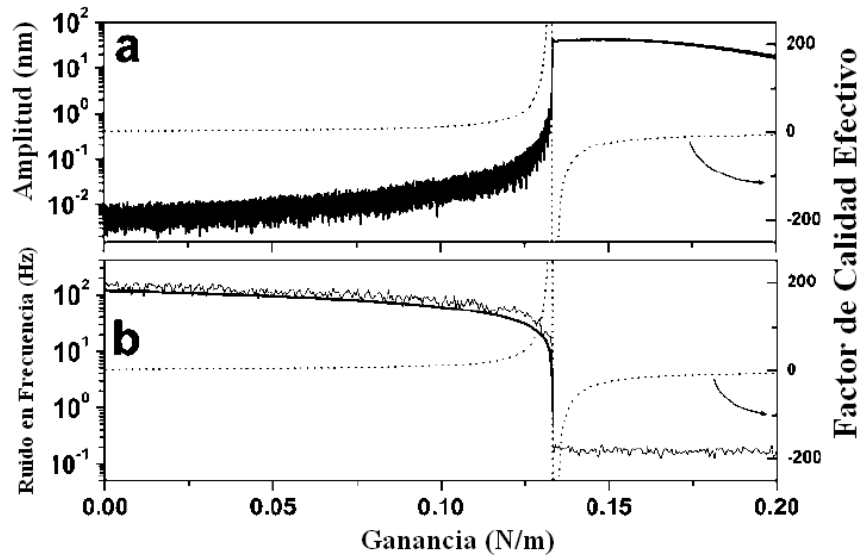


Figura 4.8. Simulación teórica del valor medio y la desviación estándar (a) y frecuencia (b) de la amplitud de oscilación en función de la ganancia del ciclo de realimentación. La línea punteada representa el factor de calidad efectivo.

En la figura 4.8 se muestra la simulación teórica de la media y la desviación estándar de los valores de la amplitud a la frecuencia de resonancia en función de la ganancia del ciclo de realimentación. El factor de calidad efectivo se muestra como líneas punteadas. La simulación corresponde a una micropalanca oscilando en agua con un factor de calidad de $Q = 3$, una constante elástica de 0.4 N/m y una frecuencia de resonancia de $\omega_0 = 12.5 \text{ kHz}$. La estadística se obtiene a partir de 32 ensayos diferentes para un ancho de banda de la medida de 12 Hz . Se pueden distinguir dos regímenes diferentes en el comportamiento de la oscilación que están relacionados con el signo del factor de calidad efectivo.

- Para ganancias por debajo de un cierto valor crítico correspondiente a $G_c = Q/k$ el factor de calidad efectivo es positivo. La relación señal – ruido permanece constante con un valor aproximado de 1.9.
- Para ganancias mayores o iguales que el valor crítico el factor de calidad es negativo y la amplitud de oscilación sufre un crecimiento abrupto de dos órdenes de magnitud. La amplitud en este régimen viene dada aproximadamente por $A_s = QF_s/k$, donde F_s es la fuerza máxima que puede dar la excitación. Cuando la ganancia tiene un valor mayor del 30% del valor crítico la amplitud comienza a

decrecer debido a la generación de armónicos superiores. En este régimen la relación señal – ruido es de aproximadamente 900 – 1000.

El ruido en frecuencia en función de la ganancia se representa en la figura 4.8.b. El ruido en frecuencia se mejora ligeramente con la ganancia en el régimen de factores de calidad efectivos positivos, en particular para valores cercanos a la ganancia crítica. De este modo, para el sistema dinámico simulado tenemos que el ruido en frecuencia es de aproximadamente 150 Hz cuando el lazo de realimentación está abierto, mientras que es de unos 30 Hz cuando el factor de calidad efectivo es 100. Sin embargo, en el régimen de saturación, es decir, para ganancias mayores o iguales que el valor crítico, el ruido en frecuencia decrece rápidamente hasta ~0.15 Hz. Además, en este régimen el ruido en frecuencia es independiente de la ganancia dada al sistema.

La oscilación con un factor de calidad efectivo mayor que cero se puede caracterizar por su susceptibilidad mecánica, por tanto, la densidad espectral de la función de autocorrelación del ruido viene dada por $S_z(\omega) = |X_{eff}|^2 \Psi_{th}$. Como el movimiento de las moléculas que rodean el resonador no se ve afectada por el lazo de realimentación, Ψ_{th} no cambia. Como debe satisfacerse el teorema de fluctuación-disipación, podemos decir que la palanca oscila a una cierta temperatura efectiva dada por [22]

$$\frac{T_{eff}}{T} = \frac{Q_{eff}}{Q}$$

Consideremos un intervalo de tiempo Δt en el cual el ruido $z(t)$ tiene un valor promedio igual a cero. El ruido se puede expandir entonces en una serie de Fourier escribiéndose entonces como $z(t) = r(t)\cos[\omega_0 t + \theta(t)]$, donde $r^2(t) = x^2(t) + y^2(t)$ y $\tan \theta(t) = y(t)/x(t)$, siendo

$$x(t) = \sum_k \sqrt{\frac{1}{\pi} S_z(\omega_k) \Delta \omega} \cos[(\omega_k - \omega_0)t + \alpha_k] \quad (4.12)$$

$$y(t) = \sum_k \sqrt{\frac{1}{\pi} S_z(\omega_k) \Delta \omega} \sin[(\omega_k - \omega_0)t + \alpha_k] \quad (4.13)$$

donde $k = 1, 2, 3, \dots$, $\omega_k = 2\pi k/\Delta t$ y α_k son los ángulos de la fase distribuida de manera aleatoria de tal modo que se cumpla que $z(t)$ esté distribuido de forma gaussiana.

Las fluctuaciones de fase se pueden considerar como fluctuaciones de la frecuencia de resonancia tomando la relación

$$\delta\omega(t) \equiv \omega(t) - \omega_0 = \frac{d\varphi}{dt}$$

donde $\omega(t)$ es la frecuencia instantánea. Para intervalos de tiempo lo suficientemente largos, esto es $2\pi/\Delta t \ll \omega_0$, el promedio de la fluctuación cuadrática de frecuencia viene dado por

$$\langle \delta \omega_n(t)^2 \rangle = \frac{\pi}{\omega_0 \tau} \frac{\int_{\omega_0-B}^{\omega_0+B} S_z(\omega) (\omega - \omega_0)^2 d\omega}{\int_{\omega_0-B}^{\omega_0+B} S_z(\omega) d\omega} \quad (4.14)$$

Para el caso práctico en el que $\omega_0/Q_{eff} \ll 2\pi/\Delta t \ll \omega_0$ la expresión del ruido en frecuencia se reduce a

$$\langle \delta \omega_n(t)^2 \rangle \cong \frac{B}{\Delta t Q_{eff}}, \quad \omega_0/Q_{eff} \ll 2\pi/\Delta t \ll \omega_0 \quad (4.15)$$

Basándonos en los resultados de la simulación [18], la oscilación con un factor de calidad negativo se puede modelizar como un resonador sin ruido en la amplitud, lo que daría como resultado

$$z(t) \cong \frac{QF_s}{k} \exp\{i[\omega_0 t + \theta(t)]\}$$

La fuerza ejercida por el lazo de realimentación se puede escribir como $iF_s \exp\{i[\omega_0 t + \theta(t)]\}$ donde i es la unidad imaginaria. Sustituyendo en la ecuación 4.8, llegamos a que, para el caso en el que $d\theta/dt \ll \omega_0$

$$m \frac{d\Omega(t)}{dt} + (\gamma + 2im_{load}\omega_0)\Omega(t) = -i \frac{\gamma\omega_0^2}{2\pi F_s} \int_{t-\pi/\omega_0}^{t+\pi/\omega_0} F_{th}(\tau) \exp\{-i[\omega_0\tau + \theta(\tau)]\} d\tau \quad (4.16)$$

donde se ha introducido el parámetro

$$\Omega(t) = \frac{\omega_0}{2\pi} \left[\theta\left(t + \frac{\pi}{\omega_0}\right) - \theta\left(t - \frac{\pi}{\omega_0}\right) \right]$$

que representa la desviación de la frecuencia promediada por ciclo de oscilación. Nótese que $\omega_0 + \Omega(t)$ representa la inversa del intervalo temporal entre dos ceros consecutivos con el mismo signo de la velocidad y, por tanto, representa una magnitud medible de una oscilación estocástica. Escribiendo la fuerza de Langevin en términos de la función escrita como sumas de términos de Fourier y calculando el promedio del módulo de ambos lados de la ecuación llegamos a una expresión para el ruido en frecuencia

$$\frac{\langle \Omega^2(t) \rangle}{\omega_0^2} = g \frac{k_B T k}{Q^3 F_s^2} \quad (4.17)$$

donde g viene dado por

$$g = \frac{2}{\pi^3} \int_0^\infty \frac{\sin^2(\pi x)}{(x-1)^2 \left(x^2 + 4 + \frac{1}{Q^2} \right)} dx \quad (4.18)$$

El parámetro g muestra una pequeña dependencia con el factor de calidad intrínseco de la palanca, siendo aproximadamente 0.1139 para un factor de calidad igual a 3 y tendiendo rápidamente a 0.1164 conforme aumenta el valor del factor de calidad. Si utilizamos un filtro paso – banda tenemos que sustituir los límites de la integral por $1 - B/\omega_0$ y $1 + B/\omega_0$.

4.3.2. Resultados Experimentales

Las aplicaciones potenciales de esta técnica se demuestran midiendo en tiempo real el cambio en las propiedades reológicas del fluido en el que vibra la palanca, en nuestro caso el paso de agua pura y una mezcla con 1% de glicerol.

Los experimentos se han realizado utilizando las mismas micropalancas comerciales (Olympus Ltd) de nitruro de silicio que en la sección anterior, con unas dimensiones de $200\mu\text{m}$ de largo, $20\mu\text{m}$ de ancho y $0.8\mu\text{m}$ de espesor, recubiertas con una capa de 70nm de oro y 5nm de cromo. Tal y como dijimos la fuerza que utilizamos para excitar la palanca proviene del efecto fototérmico descrito en el capítulo anterior. Para la auto – excitación utilizamos una electrónica comercial (Infinitesima) y una combinación de amplificadores de corriente y voltaje.

La figura 4.9 también muestra el esquema que seguimos para implementar la técnica de la auto – excitación. Tal y como se desprende de dicho esquema, simplemente cambiando el valor en la función “OR” podemos tener únicamente la excitación fotorémica o seguimos con el esquema de la realimentación, es decir, el lazo de realimentación abierto o cerrado.

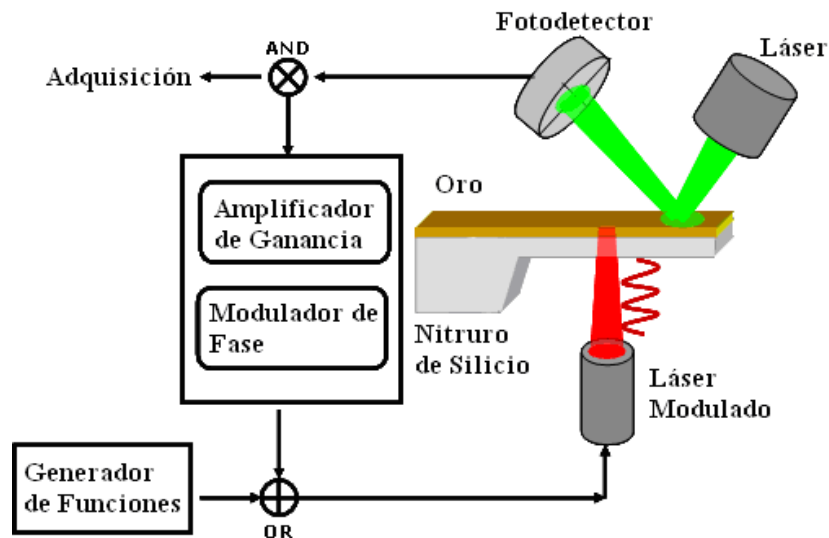


Figura 4.9. Esquema del montaje experimental utilizado para la excitación y/o auto – excitación fototérmica de la micropalanca.

El láser de intensidad modulada induce un cambio en la temperatura periódico en el tiempo alrededor de la región iluminada, lo que se traduce en una vibración de la palanca a través del efecto bimetalico, véase la sección 3.2 del Capítulo 3. Tal y como vimos en la sección correspondiente el punto óptimo de la excitación fototérmica se encuentra próximo a aquellas regiones en las que la curvatura es máxima [1]. Para mostrar la selectividad de la técnica vamos a escoger el segundo modo de oscilación flexural, que se excita preferentemente focalizando el láser cerca del antinodo del modo a una distancia de unas 110 μ m de la base de la palanca.

Tal y como se muestra en el esquema de la figura 4.9, la frecuencia de resonancia se obtiene a partir de dos formas diferentes. El primer método es la propia excitación fototérmica desarrollada en el capítulo anterior, donde la señal del láser de excitación se modula en frecuencia de tal modo que quede sincronizada con el tiempo de adquisición. El segundo método es la técnica de la auto-excitación. Tal y como comentamos en la presentación de la técnica la salida del fotodetector sensible a la posición se hace pasar por un filtro paso-alto cuya frecuencia de corte está en 10kHz, se amplifica mediante un amplificador variable y se modula su fase. Posteriormente se introduce esta señal en el láser de excitación. El desfase introducido es aproximadamente $\pi/2$ radianes. El filtro paso-alto se introduce para evitar la posible realimentación de la señal proveniente del primer modo de oscilación de la palanca.

La figura 4.10 muestra el espectro de frecuencias de la palanca en agua en tres situaciones diferentes: sin excitación, excitado por la señal modulada proveniente de un generador de funciones (excitación fototérmica) y mediante la técnica de la auto-excitación mediante un ciclo de realimentación positivo.

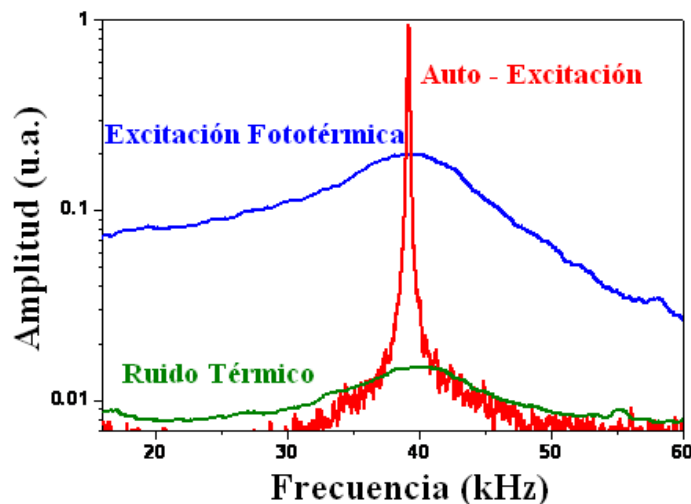


Figura 4.10. Espectro de frecuencia del segundo modo flexural de vibración de una micropalanca en agua excitada por fuerzas térmicas aleatorias (línea verde), por el método de modulación de la frecuencia (línea azul) y la técnica de la auto – excitación en el régimen no lineal (línea roja).

Sin ningún tipo de excitación, línea verde en la figura 4.10, se puede ver claramente el pico de resonancia correspondiente al segundo modo flexural de vibración con una frecuencia de resonancia de 39.4kHz y un factor de calidad de 2.5. Esto implica que el movimiento browniano de la palanca se puede distinguir sin problemas por encima del ruido electrónico en este rango de frecuencias. El pico correspondiente a la

técnica de la modulación de la frecuencia, o excitación fototérmica, línea azul en la figura 4.10, presenta una mejor relación señal ruido, pero sin ningún cambio significativo en la respuesta en frecuencia. Sin embargo, cuando utilizamos la técnica de la auto – excitación en el régimen no lineal, línea roja en la figura 4.10, podemos observar un pico de resonancia muy estrecho, con un ancho de banda de 180Hz. Esta respuesta se mantiene estable, sin cambios apreciables en la amplitud y la anchura del pico, durante varias horas.

En la figura 4.11 se muestra el ruido en la medida de la frecuencia de resonancia de este modo de vibración utilizando los tres métodos para la obtención de la frecuencia de resonancia que hemos visto hasta el momento. La estimación del ruido en frecuencia se hace mediante el cálculo de la transformada de Fourier discreta (DFT) para la frecuencia obtenida durante un tiempo de diez minutos.

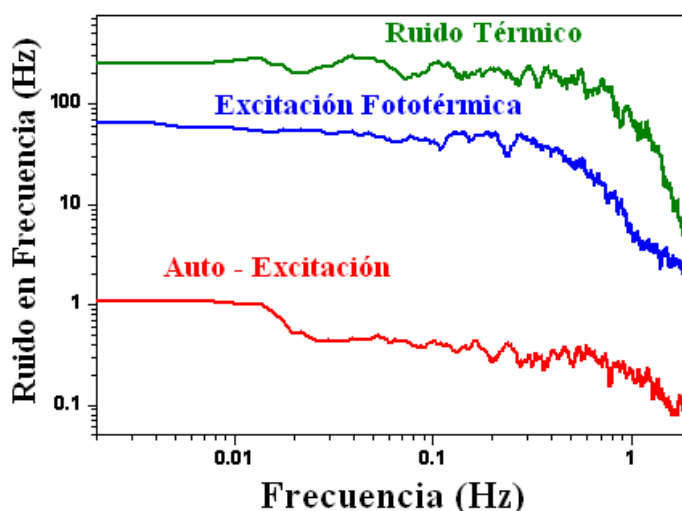


Figura 4.11. Transformada de Fourier discreta (DFT) de la frecuencia de resonancia de una micropalanca excitada por fuerzas térmicas aleatorias (línea verde), por el método de modulación de la frecuencia (línea azul) y la técnica de la auto – excitación en el régimen no lineal (línea roja).

La estabilidad en frecuencia de la micropalanca excitada mediante la modulación de la frecuencia, línea azul en la figura 4.11, varía desde 2000 partes por millón (ppm) para una medida con un ancho de banda $B = 0.1\text{Hz}$ hasta las 400ppm para un ancho de banda de 1Hz. La resolución en la frecuencia de resonancia obtenida mediante esta técnica de excitación es comparable con los mejores resultados reportados en la literatura para medidas en líquidos utilizando sensores nanomecánicos [33].

Sin embargo, la técnica de la auto-excitación fototérmica lleva asociado un aumento espectacular de la resolución de la frecuencia de resonancia de, aproximadamente dos órdenes de magnitud. La estabilidad de la frecuencia de resonancia varía desde las 10ppm para $B = 0.1\text{Hz}$, hasta 5ppm para $B = 1\text{Hz}$.

Para ilustrar la capacidad de la técnica de la auto-excitación fototérmica en el régimen no lineal vamos a medir el cambio en las propiedades del fluido que rodea la palanca. Al igual que en el caso de la excitación fototérmica, monitorizaremos en tiempo real la frecuencia de resonancia cuando se introduce una mezcla de un 1% de glicerol en agua pura.

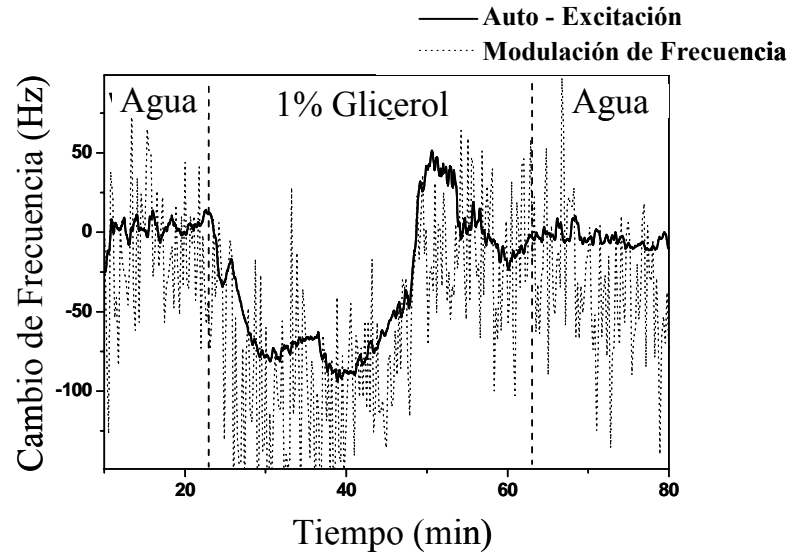


Figura 4.12. Respuesta de la frecuencia de resonancia del segundo modo flexural de una micropalanca vibrando en agua al cambio en la densidad y viscosidad que supone el añadir un 1% de glicerol en masa. La frecuencia de resonancia se mide mediante la técnica de la auto – excitación (línea continua) y de la modulación de la frecuencia (línea discontinua) en dos experimentos diferentes bajo las mismas condiciones experimentales.

La figura 4.12 muestra la medida del cambio de la frecuencia de resonancia debido a la entrada en la celda de la mezcla de agua y glicerol. El ancho de banda de la medida es de 1Hz. En esta figura se incorpora en línea discontinua el mismo experimento midiendo la frecuencia de resonancia mediante la técnica de la modulación de la frecuencia utilizando la excitación fototérmica. La frecuencia de resonancia comienza a decrecer conforme la mezcla de agua y glicerol entra en la celda de fluidos hasta decrecer 80Hz. La frecuencia se mantiene en este valor un tiempo aproximado de 30min hasta que el agua pura vuelve a llenar la celda recuperando el valor inicial. Tal y como podemos observar a partir de la figura 4.12 el comportamiento es exactamente el mismo que cuando se utiliza la excitación fototérmica, sin embargo, el ruido es significativamente menor utilizando la técnica de la auto-excitación.

Tal y como vimos en el capítulo anterior, el descenso en la frecuencia de resonancia implica un incremento en la masa de la palanca (m_C) que se puede separar en dos términos: la masa en vacío y la masa de fluido arrastrado por la palanca en su movimiento de oscilación. Estimaremos la masa de la palanca a través de la expresión de la frecuencia de resonancia como $k \approx 0.24m_C\omega_1^2$ y $\Delta\omega_2/\omega_2 \approx -1/2\Delta m_C/m_C$ donde ω_1 y ω_2 son las frecuencias de resonancia del primer y el segundo modo flexural de la palanca respectivamente. La masa en vacío de la palanca es aproximadamente igual a 10.2ng, mientras que cuando la sumergimos en agua aumenta hasta aproximadamente 211ng. El hecho de añadir el glicerol a la mezcla incrementa la masa de fluido arrastrada por la palanca unos 0.8ng. El valor de la masa de fluido arrastrada por la palanca en su movimiento de oscilación está de acuerdo con el análisis de la ecuación de Navier-Stokes que vimos en el capítulo anterior, y que se puede resumir en la siguiente expresión

$$\frac{m_C^f}{m_C^v} = 1 + \frac{4W\rho}{\rho_C T\pi} \text{Re}[\Gamma(\omega)]$$

donde los superíndices f y v indican la masa en el fluido y en vacío respectivamente, ρ es la densidad del fluido, ρ_C la densidad de la palanca, W y T la anchura y el espesor de la palanca y $I(\omega)$ la función hidrodinámica para la palanca [3] que depende a su vez del número de Reynolds.

Los cálculos teóricos basados en la ecuación anterior predicen un cambio en la masa arrastrada por la palanca de 1.2ng teniendo en cuenta que el glicerol aumenta la densidad y viscosidad del fluido en 0.13% y 1.27% respectivamente.

La resolución en frecuencia tan alta que hemos visto en estas medidas viene dada por el comportamiento del resonador auto-excitado en el régimen no lineal. El ruido en frecuencia se puede estimar en esta ocasión modelizando la oscilación como si no tuviera ruido en la amplitud ni en la fase, ecuaciones 4.14 y 4.15,

$$\frac{\delta\omega}{\omega_0} \approx 0.114 \sqrt{\frac{k_B T k B}{Q^3 F_s^2 \omega_0}}$$

donde k_B es la constante de Boltzmann, T es la temperatura absoluta y F_s es la fuerza máxima suministrada por la fuente de excitación. Esta ecuación predice una resolución en frecuencia del orden de 1ppm, lo que está de acuerdo con nuestros resultados experimentales. Este valor permite, por tanto, medir masas adsorbidas a la superficie de nuestra palanca con una sensibilidad de 1pg, lo que supone una mejora de tres órdenes de magnitud respecto a los mejores resultados obtenidos hasta la fecha en la literatura.

Se podrían lograr mejoras aún más significativas utilizando micropalancas con valores del factor de calidad intrínseco más altos y una menor constante elástica. Además, la sensibilidad de los sensores nanomecánicos a la adsorción de masa (sensores biológicos) o a la masa del fluido arrastrada (sensores reológicos) se podría aumentar decreciendo el tamaño de la palanca. De hecho, se han utilizado palancas 100 veces menores para medir masas adsorbidas en el rango de los attogramos en vacío [10]. El uso de este tipo de palancas en líquidos podría aumentar la resolución de las medidas varios órdenes de magnitud. Por tanto, la técnica de la auto-excitación junto con mejoras en los procesos de fabricación podría dar lugar a una resolución en la medida de los sistemas biológicos *in situ* en tiempo real sin precedentes.

REFERENCIAS

1. D. Ramos, J. Tamayo, J. Mertens, M. Calleja “Photothermal excitation of microcantilevers in liquids” *J. Appl. Phys.* **99**, 124904 (2006).
2. D. Ramos, J. Mertens, M. Calleja, J. Tamayo “Photothermal self-excitation of nanomechanical resonators in liquids” *Appl. Phys. Lett.* **92**, 173108 (2008).
3. J. E. Sader “Frequency response of cantilever beams immersed in viscous fluids with applications to the atomic force microscope” *J. Appl. Phys.* **84**, 64 (1998).
4. M. R. Paul, M. T. Clark, M. C. Cross “The stochastic dynamics of micron and nanoscale elastic cantilevers in fluid: fluctuations from dissipation” *Nanotechnology* **17**, 4502 (2006).
5. M. Papi, G. Arcovito, M. De Spirito, M. Vassalli, B. Tiribilli “Fluid viscosity determination by means of uncalibrated atomic force microscopy cantilevers” *Appl. Phys. Lett.* **88**, 194102 (2006).
6. E. Meyer, H. J. Hug, R. Bennewitz “Scanning Probe Microscopy: The Lab on a Tip” Ed. Springer, Berlin (2003).
7. P. S. Waggoner, H. G. Craighead “Micro- and nanomechanical sensors for environmental, chemical, and biological detection” *Lab Chip* **7**, 1238 (2007).
8. F. R. Blom, S. Bouwstra, M. Elwenspoek, J. H. J. Fluitman “Dependence of the quality factor of micromachined silicon beam resonators on pressure and geometry” *J. Vac. Sci. Technol.* **10**, 38 (1992).
9. J. Tamayo “Study of the noise of micromechanical oscillators under quality factor enhancement via driving force control” *J. Appl. Phys.* **97**, 044903 (2005).
10. K. L. Ekinici, X. M. H. Huang, M. L. Roukes “Ultrasensitive nanoelectromechanical mass detection” *Appl. Phys. Lett.* **84**, 4469 (2004).
11. T.P. Burg, M. Godin, W. Shen, G. Carlson, J.S. Foster, K. Babcock, S.R. Manalis “Weighing of Biomolecules, Single Cells, and Single Nanoparticles in Fluid” *Nature*, **446** 1066 (2007).
12. K. Jensen, K. Kim, A. Zettl “An atomic – resolution nanomechanical mass sensor” *Nature Nanotechnol.* **3**, 533 (2008).
13. D. M. Karabacak, V. Yakhot, K. L. Ekinici “High-Frequency Nanofluidics: An Experimental Study Using Nanomechanical Resonators” *Phys. Rev. Lett.* **98**, 254505 (2007).
14. J. A. Judge, J. F. Vignola, J. Jarzynski “Dissipation from microscale and nanoscale beam resonators into a surrounding fluid” *Appl. Phys. Lett.* **92**, 124102 (2008).
15. S. Boskovic, J. W. M. Chon, P. Mulvaney, J. E. Sader “Rheological measurements using microcantilevers” *J. Rheol.* **46**, 891 (2002).
16. S. Basak, A. Raman, S. V. Garimella “Hydrodynamic loading of microcantilevers vibrating in viscous fluids” *J. Appl. Phys.* **99**, 114906 (2006).
17. B. Illic, S. Krylov, K. Aubin, R. Reichenbach, H. G. Craighead “Optical excitation of nanoelectromechanical oscillators” *Appl. Phys. Lett.* **86**, 193114 (2005).
18. J. Tamayo, M. Calleja, D. Ramos, J. Mertens “Underlying mechanisms of the self – sustained oscillation of a nanomechanical stochastic resonator in liquid” *Phys. Rev. B* **76**, 180201 (R) (2007).
19. T. Fukuma, M. J. Higgins, S. P. Jarvis “Direct Imaging of Individual Intrinsic Hydration Layers on Lipid Bilayers at Ångstrom Resolution” *Biophys. J.* **92**, 3603 (2007).

20. D. Ebeling, H. Hölscher, H. Fuchs, B. Anczykowski, U. D. Schwarz “Imaging of biomaterials in liquids: a comparison between conventional and Q-controlled amplitude modulation ('tapping mode') atomic force microscopy” *Nanotechnology* **17**, S221 (2006).
21. J. Bechhoefer “Feedback for physicists: A tutorial essay on control” *Rev. Mod. Phys.* **77**, 783 (2005).
22. O. Arcizet, P. – F. Cohadon, T. Briant, M. Pinard, A. Heidmann “Radiation-pressure cooling and optomechanical instability of a micromirror” *Nature (London)* **444**, 71 (2006).
23. E. Buks, B. Yurke “Mass detection with a nonlinear nanomechanical resonator” *Phys. Rev. E* **74**, 046619 (2006).
24. J. Tamayo, A. D. L. Humphris, M. J. Miles “Piconewton regime dynamic force microscopy in liquid” *Appl. Phys. Lett.* **77**, 582 (2000).
25. T. Fukuma, K. Kobayashi, K. Matsushige, H. Yamada “True molecular resolution in liquid by frequency-modulation atomic force microscopy” *Appl. Phys. Lett.* **86**, 193108 (2005).
26. J. Tamayo, A. D. L. Humphris, A. M. Malloy, M. J. Miles “Chemical sensors and biosensors in liquid environment based on microcantilevers with amplified quality factor” *Ultramicroscopy* **86**, 167 (2001).
27. D. Ramos, J. Mertens, M. Calleja, J. Tamayo “Photothermal self – excitation of nanomechanical resonator in liquids” *Appl. Phys. Lett.* **92**, 173108 (2008).
28. B. D'Urso, R. Van Handel, B. Odom, D. Hanneke, G. Gabrielse “Single-Particle Self-Excited Oscillator” *Phys. Rev. Lett.* **94**, 113002 (2005).
29. M. Lax “Classical Noise. V. Noise in Self-Sustained Oscillators” *Phys. Rev.* **160**, 290 (1967).
30. D. Ham, A. Hajimiri “Virtual damping and Einstein relation in oscillators” *IEEE J. Solid – State Circuits* **38**, 407 (2003).
31. U. Dürig, O. Züger, A. Stalder “Interaction force detection in scanning probe microscopy: Methods and applications” *J. Appl. Phys.* **72**, 1778 (1992).
32. M. R. Paul, M. C. Cross “Stochastic Dynamics of Nanoscale Mechanical Oscillators Immersed in a Viscous Fluid” *Phys. Rev. Lett.* **92**, 235501 (2004).
33. T. Braun, V. Barwich, M. K. Ghatkesar, A. H. Bredekamp, C. Gerber, M. Hegner, H. P. Lang “Micromechanical mass sensors for biomolecular detection in a physiological environment” *Phys. Rev. E* **72**, 031907 (2005).

Capítulo 5

Efecto de las Propiedades Mecánicas de los Adsorbatos en la Frecuencia de Resonancia: Detección *ex situ* de Patógenos

El presente capítulo está dedicado a la detección *ex situ* de patógenos. Utilizamos el cambio en la frecuencia de resonancia de la micropalanca para detectar bacterias *E. coli*. A partir de medidas en aire antes y después de la inmersión de la palanca en el líquido que contiene las bacterias nos damos cuenta de que la descripción que se utiliza de forma habitual en la literatura es incompleta, lo que nos impulsa a desarrollar nuestro propio modelo teórico que logre explicar satisfactoriamente los resultados experimentales. Para comprobar este modelo hacemos una deposición controlada de bacterias en diferentes zonas de la palanca, midiendo el cambio en la frecuencia de resonancia. Si la deposición se realiza en el extremo libre la resonancia se desplaza hacia frecuencias más bajas, tal y como se describe en la literatura; pero si depositamos la masa en el extremo fijo la frecuencia de resonancia aumenta, tal y como predice nuestro modelo, que es además comprobado utilizando el método de elementos finitos.

5.1. INTRODUCCIÓN

Existe una demanda creciente por parte de la sociedad de sensores bioquímicos con sensibilidades, rendimientos y velocidades de procesamiento cada vez mayores. Una buena muestra de ello se observa en la investigación farmacéutica y biológica, así como en el desarrollo de nuevas técnicas de diagnóstico médico. Tal y como se ha mencionado anteriormente, los resonadores nanomecánicos [1-9] han surgido en los últimos años como respuesta a esta necesidad creciente, como alternativa al resto de tecnologías que se aplican actualmente: biosensores electrónicos basados en nanohilos y nanotubos [10,11], biosensores ópticos basados en nanopartículas [12]. La gran ventaja de los sensores nanomecánicos frente a otros dispositivos es que proporcionan una detección libre de marcadores y que pueden ser fácilmente escalables en tamaño reduciendo considerablemente el volumen de muestra requerido para el análisis y en número de elementos, que se hace indispensable a la hora de realizar análisis de muestras múltiples y aumenta la complejidad de los análisis bioquímicos que se pueden realizar [2].

Los análisis bioquímicos en la industria agroalimentaria han cobrado en los últimos tiempos un interés inusitado dentro de las políticas de salud pública. Según fuentes de la Organización Mundial de la salud (WHO en sus siglas en inglés) en 2007 murieron 1,8 millones de personas debido a enfermedades relacionadas con procesos diarreicos, de los cuales el 90% eran niños. Una gran parte de estas enfermedades se puede atribuir a la falta de accesibilidad a alimentos y agua en buen estado de conservación. Pero no se trata sólo de un problema que afecta al tercer mundo, ya que se estima que en Estados Unidos cursan 76 millones de cuadros diarreicos al año, de los cuales 325.000 requieren hospitalizaciones y 5.000 terminan con la muerte del paciente. En el Reino Unido se calculó que en 1990 un único caso de contaminación por *samonella* conllevó un coste cercano a las 800 libras debido a los gastos por hospitalización de varios pacientes y los cargos a la seguridad social por los días que dejaron de trabajar [13]. Tal y como se desprende de un reciente informe de la Organización Mundial de la Salud [14], el riesgo que conllevan las enfermedades transmitidas por los alimentos se ha visto incrementado en los últimos años debido a la creciente globalización de la industria agroalimentaria.

La bacteria *Escherichia coli* (E. coli) es quizás el organismo procariota más estudiado por el hombre, se trata de una bacteria que se encuentra generalmente en los intestinos de animales de sangre caliente, incluido el humano. Además, es un indicador habitual de la salubridad de las aguas fecales. Fue descrita por primera vez en 1885 por Theodore von Escherich, bacteriólogo alemán, quién la denominó *Bacterium coli*. Posteriormente la taxonomía le adjudicó el nombre de *Escherichia coli*, en honor a su descubridor. En el intestino humano colabora para el correcto funcionamiento del proceso digestivo, además de producir vitaminas B y K. En cuanto a su morfología y clasificación se trata de un bacilo que reacciona negativamente a la tinción de Gram, es anaerobio facultativo, móvil por flagelos peritricos (que rodean su cuerpo), no forma esporas, es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa y su prueba de IMVIC (Indol, Rojo de metilo, Voges-Proskauer y Citrato) es ++--.

Se distinguen seis cepas diferentes de acuerdo a su poder patogénico: enteropatógena, enterotoxigénica, enteroinvasiva, entero hemorrágica o verotoxigénica, enteroagregativa y adherencia difusa. La cepa utilizada en el presente estudio es la variante *Escherichia coli* O157:H7. Aunque la mayoría de las cepas son inocuas y viven en los intestinos de los seres humanos y animales saludables, esta cepa produce una potente toxina y puede ocasionar una enfermedad grave. No obstante, en

los experimentos realizados se ha utilizado una cepa modificada genéticamente para resultar inocua.

La *E. coli* O157:H7 fue reconocida inicialmente como causa de enfermedad en 1982 durante un brote de diarrea aguda con sangre; el brote determinó que se debía a carne de vacuno contaminada. En 1996, cerca de Seattle se produjo un brote a causa de esta bacteria, que se encontró en botellas de zumo de manzana de la marca Odwalla. La bacteria entró en las botellas porque las manzanas que se exprimieron contenían excrementos de venados de la zona y no hubo ningún tipo de pasteurización [15].

Se diferencia de las otras *E. coli* en que no fermenta el sorbitol, no crece a 44 °C y no produce β -glucuronidasa. La combinación de letras y números en el nombre de la bacteria se refiere a los marcadores antigénicos específicos que se encuentran en su superficie y la distingue de otros tipos de *E. coli*: el antígeno somático O, proveniente del lipopolisacárido de la pared celular; el antígeno flagelar H, compuesto por 75 polisacáridos.

5.2. PRINCIPIO DE ACTUACIÓN

El principio de actuación de los sensores biológicos basados en resonadores nanomecánicos es la medida del cambio de la frecuencia de resonancia debido a la masa que añaden las moléculas biológicas que se adhieren a la superficie del sensor. Utilizando este mismo principio, en la literatura se ha documentado la detección de patógenos, virus y bacterias, al nivel de una única entidad [6-9]. Lo que es más, mediante la mejora de las técnicas de fabricación se espera que se alcance una sensibilidad sin precedentes simplemente reduciendo el tamaño de los resonadores [1].

Los experimentos de detección de entidades patógenas individuales (microorganismos) consisten en: inmersión de la palanca en una solución que contiene los sistemas biológicos que se quieren detectar; lavado y secado de la palanca; y la posterior medida de la frecuencia de resonancia que se compara con la inicial. El motivo de realizar este tipo de experimentos *ex situ*, esto es fuera de su ambiente natural midiendo en aire o vacío, es el bajo factor de calidad que presentan las palancas sumergidas en líquido [16,17]. Con el fin de evitar los problemas que conlleva un factor de calidad bajo han surgido diferentes propuestas a lo largo de los últimos años como por ejemplo el encapsulado de un microcanal suspendido que se introduce en una cámara de vacío [18] o el uso de una realimentación del ruido térmico de la palanca que aumenta de modo artificial el factor de calidad [19]. En este tipo de aplicaciones la masa de las moléculas pegadas a la superficie del resonador se calcula utilizando la aproximación del oscilador armónico

$$\frac{\Delta\omega}{\omega_0} = -\frac{1}{2} \frac{\Delta m}{m} \quad (5.1)$$

donde ω_0 es la frecuencia de resonancia de la palanca, $\Delta\omega$ el cambio de dicha frecuencia de resonancia, m la masa efectiva de la palanca antes de la adsorción y Δm el cambio de masa. Mientras que esta expresión funciona razonablemente bien para masas añadidas uniformemente distribuidas a lo largo de la palanca, se ha demostrado que para masas discretas la posición a lo largo de la longitud de la palanca afecta en gran medida al cambio en la frecuencia de resonancia [20].

En la presente sección vamos a estudiar el efecto de la adsorción de bacterias *E. coli* en la frecuencia de resonancia de una micropalanca. Estudiaremos tanto el efecto sobre los modos flexurales como torsionales de manera experimental y teórica, comprobando además los resultados mediante simulaciones por elementos finitos.

5.3. ADSORCIÓN HOMOGÉNEA

Comenzamos nuestro estudio midiendo los cambios en la frecuencia de resonancia de micropalancas comerciales de nitruro de silicio recubiertas con una fina capa de oro (Olympus Ltd). En una primera aproximación al problema, sumergimos la palanca en una solución que contiene las bacterias, y medimos la frecuencia de resonancia antes y después comparando ambas medidas. La solución acuosa es el resultado de la centrifugación del medio de crecimiento de las bacterias conocido como Luria Bertani (LB) compuesto por diferentes tipos de azúcares, sales y aminoácidos. El residuo sólido resultante fue resuspendido en agua ultrapura, con el fin de evitar el efecto de los cristales de sal que se originan debido a la evaporación del líquido al secar la palanca. Este proceso se repitió tres veces. La concentración final de bacterias en la solución acuosa es aproximadamente igual a 10^9 células·ml⁻¹, que se corresponde con el equilibrio que se alcanza en el medio de crecimiento. El resultado de la deposición de bacterias por este método se puede ver en la figura 5.1.

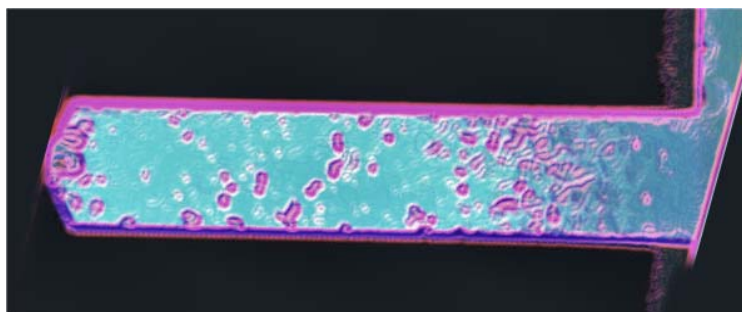


Figura 5.1. Micrografía óptica de una micropalanca comercial (Olympus Ltd) de dimensiones de 200µm de largo, 20µm de ancho y 800nm de espesor después de haber sido introducida en el medio de cultivo de las bacterias

Tal y como se puede apreciar en la fotografía anterior, figura 5.1, este proceso de deposición no controlada sobre la palanca produce una adsorción de bacterias sobre la superficie de la palanca aproximadamente homogénea. Al no existir ningún tratamiento previo de la superficie de la palanca, el reverso de la misma presenta una cantidad de bacterias adsorbidas similar al anverso. Con el fin de mejorar el contraste en esta micrografía óptica se han empleado una serie de filtros que resaltan las bacterias con ese color tan característico.

Podemos comparar entonces la frecuencia de resonancia de la palanca antes y después de la deposición. Además tenemos la posibilidad de hacer esto mismo con diferentes modos de vibración. De esta forma, para el primer modo flexural de vibración de la palanca tenemos que el espectro medido antes y después presenta un desplazamiento de la frecuencia de resonancia, fig. 5.2.

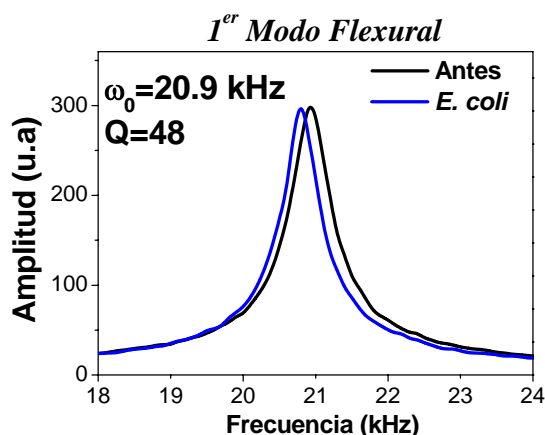


Figura 5.2. Espectro de ruido térmico de una palanca antes (línea negra) y después (línea azul) de su inmersión en el cultivo de bacterias para el primer modo flexural de resonancia.

Los valores tanto de la frecuencia de resonancia, ω_0 , como del factor de calidad, Q , que aparecen en la figura se corresponden con los valores de la palanca limpia, antes de verse sometida al proceso de la deposición. El segundo modo flexural de vibración presenta también un desplazamiento de la frecuencia de resonancia, tal y como se puede apreciar en la figura 5.3.

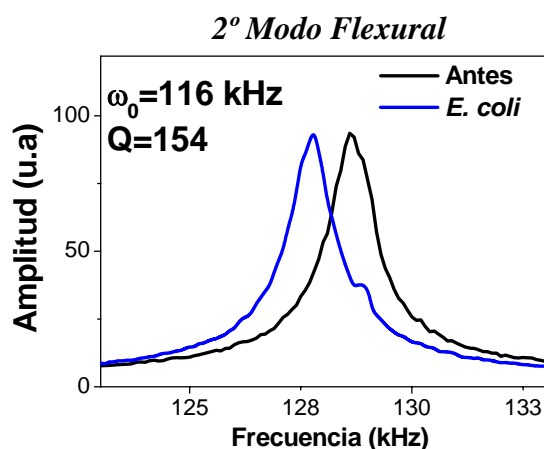


Figura 5.3. Espectro de ruido térmico de una palanca antes (línea negra) y después (línea azul) de su inmersión en el cultivo de bacterias para el segundo modo flexural de resonancia.

En este caso, el cambio en la resonancia es más apreciable, del mismo modo que, tal y como se puede apreciar en los valores que figuran en la leyenda de la figura, es mayor, tanto la resonancia como el factor de calidad. Los espectros medidos para el tercer modo flexural de vibración se recogen en la figura 5.4.

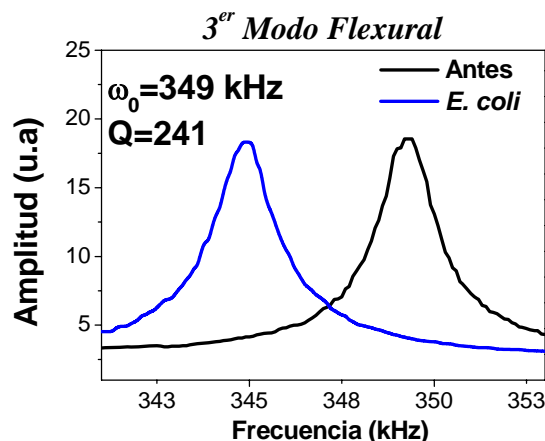


Figura 5.4. Espectro de ruido térmico de una palanca antes (línea negra) y después (línea azul) de su inmersión en el cultivo de bacterias para el tercer modo flexural de resonancia.

Al igual que en el caso anterior, este modo presenta una frecuencia y un factor de calidad mayores que en el caso del primer modo flexural de vibración de la palanca, lo que se traduce en un desplazamiento mayor de la frecuencia de resonancia.

Todas las medidas anteriores se corresponden bastante bien con los resultados publicados en la literatura [1-9] correspondientes a medidas de cambio de masa de un oscilador armónico, en este caso una micropalanca. Tal y como se desprende de la ecuación 5.1, el cambio relativo de frecuencia de resonancia se mantiene constante para un mismo cambio de masa. Esto implica que el cambio relativo de frecuencia de resonancia tiene que ser una constante para todos los modos de vibración, ya que todos ellos presentan el mismo cambio de masa. Esta es la razón de que el cambio absoluto del primer modo de oscilación, fig. 5.2, sea muy pequeño en comparación con el tercero, fig. 5.4.

Sin embargo, cuando tratamos de extender el estudio y repetir los experimentos con el fin de lograr datos suficientes para tener una estadística fiable, encontramos que los resultados no son totalmente reproducibles. En la figura 5.5 recogemos el histograma correspondiente a 30 medidas mojando.

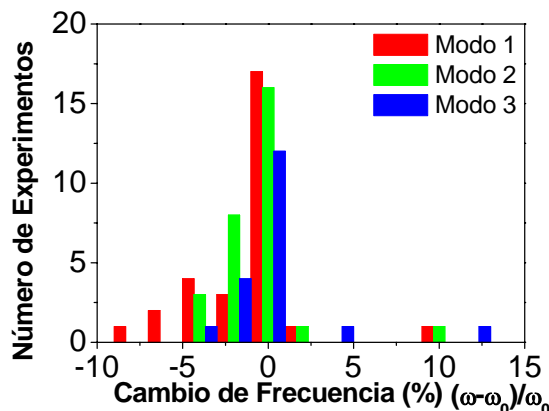


Figura 5. 5. Histograma con 30 medidas experimentales del cambio relativo de frecuencia de resonancia para los tres primeros modos de vibración de palancas comerciales (Olympus Ltd).

Lo primero de lo damos cuenta al observar este gráfico es que no existe ningún tipo de reproducibilidad en las medidas, la distribución es muy ancha. Además, podemos observar que sistemáticamente el cambio relativo de frecuencia de resonancia medido para el primer modo flexural de la palanca es mayor que en el resto de casos. Pero lo que resulta más sorprendente es que el cambio relativo de la frecuencia de resonancia puede ser negativo o positivo. Utilizando la aproximación del oscilador armónico, ecuación 5.1, vemos que el resultado de añadir una masa a la palanca hace que la frecuencia de resonancia de la misma baje. Pero si analizamos los resultados anteriores vemos que en el 24 % de los casos medidos la frecuencia de resonancia sube en vez de bajar [21]. Un comportamiento similar había sido encontrado en la detección de proteínas utilizando resonadores nanomecánicos mucho más pequeños que los comerciales utilizados en estos experimentos (5 μ m de largo y 40nm de espesor) pero, sin embargo, no se había aportado ninguna explicación al respecto [22]

5.4. ADSORCIÓN NO HOMOGÉNEA SOBRE LA PALANCA

Es un dato conocido en la literatura que la posición a lo largo de la palanca de la masa depositada afecta en gran medida al cambio de frecuencia de resonancia medido [20]. Por tanto, una primera aproximación al problema podría ser el estudio del efecto de la posición de la masa adsorbida, ya que hasta el momento no se ha controlado de ninguna manera y se trata de una distribución aleatoria.

Para hacer el citado estudio vamos a utilizar un sistema de inyección de tinta comercial (Microdrop GmbH) que a continuación pasamos a detallar. Tal y como se puede observar en la figura 5.6, el núcleo de la cabeza dispensadora está compuesto por un capilar de vidrio rodeado por una cerámica piezoeléctrica tubular.

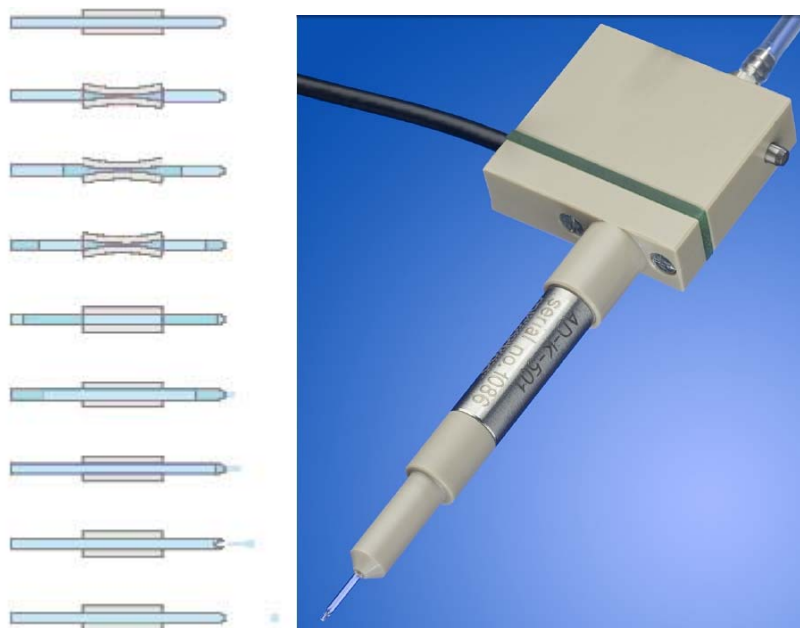


Figura 5.6. Iz q. Esq uema de la punta de la c abeza dispensadora en el pr oceso de liberación de una gota. Dcha. Fotografía que muestra la cabeza dispensadora utilizada en el sistema experimental del Instituto de Microelectrónica de Madrid.

Uno de los extremos del capilar forma una aguja con un diámetro de la apertura de unas $30\mu\text{m}$. Aplicando un pulso eléctrico la cerámica piezoeléctrica se contrae y crea una onda de presión que se propaga a través del vidrio hasta el líquido. En la región de la punta la onda de presión acelera el fluido liberando una pequeña columna de líquido que deja la punta y se rompe formando una gota gravitatoria que se mueve libremente a través del aire. Utilizando este sistema comercial se pueden alcanzar volúmenes de gotas de apenas 25pl dependiendo del tamaño de la apertura de la aguja final. En la figura 5.7, podemos ver la secuencia de liberación de las gotas tomada mediante micrografías ópticas, mostrando el tiempo de respuesta desde que se lanza el pulso.

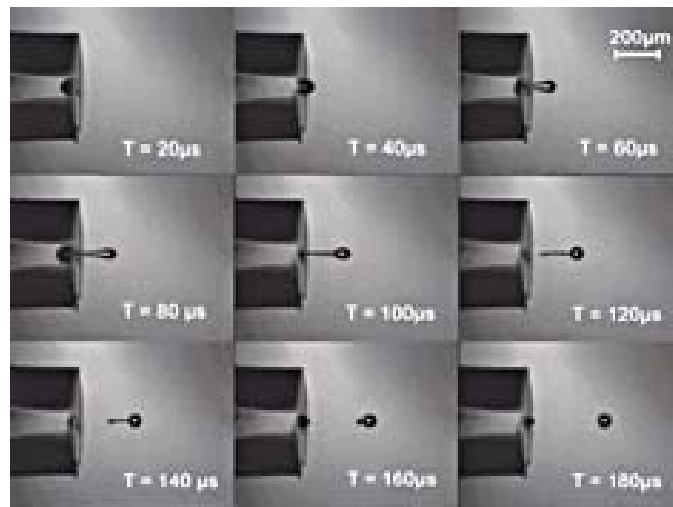


Figura 5.7. Serie de micrografías ópticas tomadas a diferentes tiempos, de la punta dispensadora mostrados en la esquina inferior derecha, desde la liberación de la gota.

Con el fin de controlar la posición a lo largo de la palanca sobre la que depositamos las gotas con el fluido que contiene las bacterias en suspensión, montamos el chip sobre una plataforma controlada por tornillos micrométricos en los tres ejes X , Y , Z . De esta forma, logramos una precisión en el punto de deposición de $10\mu\text{m}$. La figura 5.8 muestra un esquema del montaje experimental, junto a una fotografía del conjunto final.

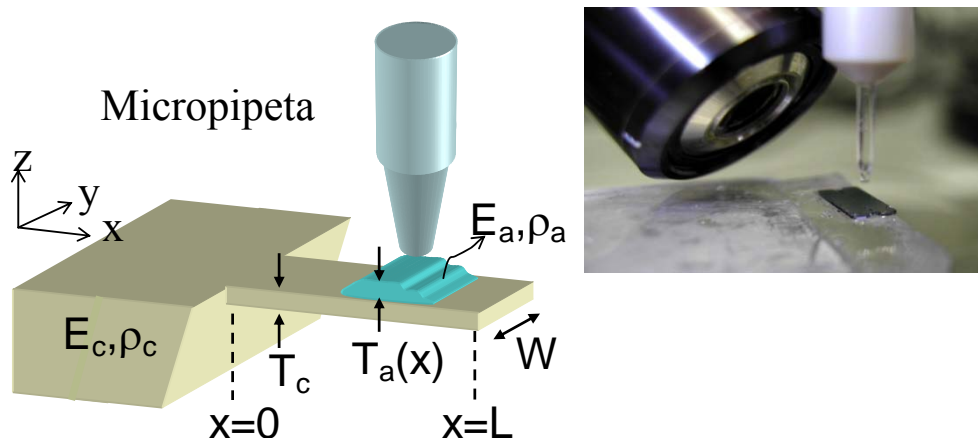


Figura 5.8. Esquema del montaje experimental para la liberación controlada de gotas sobre la palanca. En la esquina superior derecha se muestra una fotografía del montaje experimental en el Instituto de Microelectrónica de Madrid.

En la figura 5.8 están indicados de manera esquemática los parámetros correspondientes a las propiedades mecánicas tanto de la palanca como de la muestra depositada sobre la misma como el módulo de Young (E), la densidad de masa (ρ). Los subíndices a y c se corresponden con la muestra adsorbida y la palanca respectivamente. Las dimensiones de la palanca son: longitud $L = 500\mu\text{m}$; anchura $W = 100\mu\text{m}$; y espesor $T = 1\mu\text{m}$. Las palancas utilizadas para este estudio son comerciales, con la punta triangular, de silicio monocristalino (Nanoworld AG, modelo Arrow™ TL8). En la figura 5.9 se muestra una fotografía de las palancas utilizadas con un grupo de bacterias depositadas con la micropipeta colocado en el extremo libre de la misma.

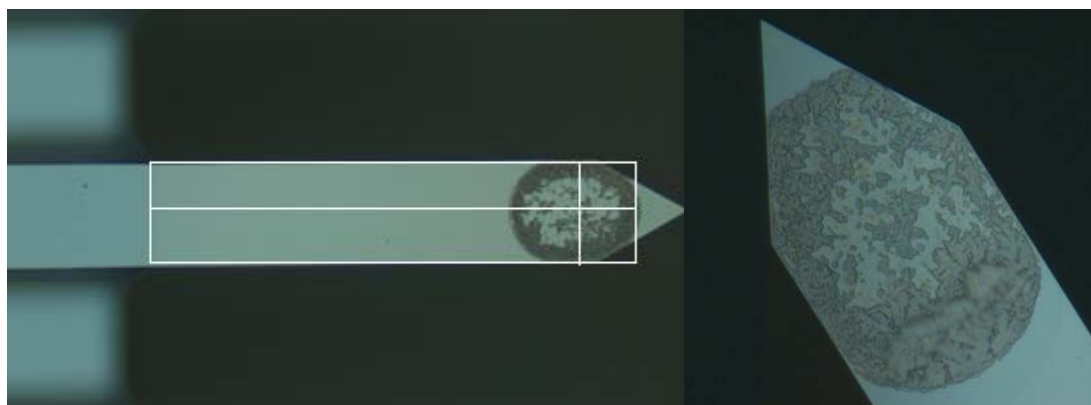


Figura 5.9. Fotografía de las palancas utilizadas en este trabajo, en la cual se ha depositado un grupo de bacterias en su extremo libre. A la izquierda se puede ver un detalle de la punta de otra palanca conteniendo bacterias

El rectángulo que se ha superpuesto en la fotografía anterior se utiliza para la determinación precisa de la posición del centro de la gota respecto del extremo fijo de la palanca, que tomaremos como origen de coordenadas. Tal y como se puede apreciar en esta imagen, el tamaño de las gotas ha sido fijado para recubrir de la forma más homogénea posible la palanca a lo largo de su eje corto. Este diámetro se puede calcular a partir de las fotografías y se corresponde con un tamaño aproximado de $120\mu\text{m}$, lo que se corresponde con un volumen de 0.5nl . La adsorción de bacterias sobre la superficie de la palanca sigue un patrón anular heredado de la forma esférica inicial de las gotas.

Pero esta técnica también es aplicable al caso de las deposiciones homogéneas a lo largo de toda la palanca. La única diferencia con el caso anterior reside en el hecho de que tenemos que depositar varias gotas, cada una recubrirá una porción de la palanca diferente. Con cuatro gotas podemos hacer un recubrimiento más homogéneo que en el caso de la inmersión de la palanca en el líquido con las bacterias en suspensión, figura 5.1, tal y como se aprecia en la siguiente fotografía, fig. 5.10.

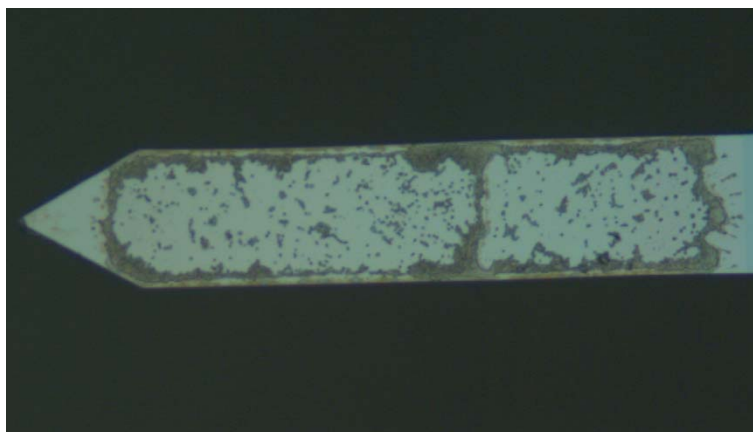


Figura 5.10. Recubrimiento homogéneo de una palanca llevada a cabo con cuatro gotas depositadas mediante la técnica de inyección de tinta.

5.5. MEDIDAS EXPERIMENTALES: CAMBIO DE FRECUENCIA DE RESONANCIA

Las diferentes frecuencias de resonancia de las micropalancas fueron medidas a través de las fluctuaciones Brownianas inherentes a las mismas [23], esto es, sin ningún tipo de fuente de excitación externa. En la figura 5.11 se muestra el espectro de ruido térmico medido en configuraciones ortogonales del fotodiodo, que, teniendo en cuenta la geometría del dispositivo experimental proporcionaría las vibraciones torsional y de la micropalanca

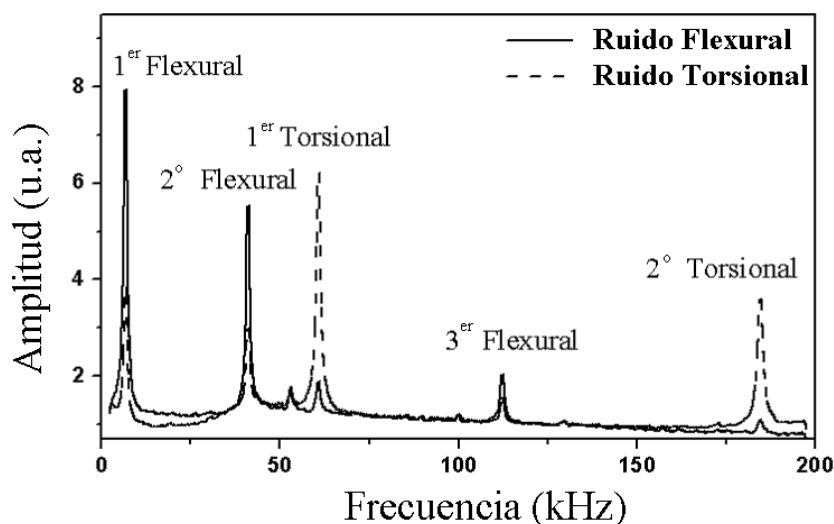


Figura 5.11. Medida experimental del espectro de ruido térmico utilizando dos configuraciones transversales del fotodiodo. La línea continua muestra el espectro resultante de la configuración paralela a la palanca (modos flexurales) y la línea discontinua la configuración transversal (modos torsionales).

Con esta separación podremos hacer un análisis detallado del efecto de la adsorción de bacterias en las diferentes configuraciones de los modos de vibración. La

medida precisa de la frecuencia de resonancia y el factor de calidad se hace ajustando los picos a curvas lorentzianas (modelo del oscilador armónico), tal y como se explicó en la sección 2.7 del Capítulo segundo. Las frecuencias típicas de este tipo de palancas, así como sus factores de calidad son: $\omega_1^F=2\pi\cdot 8.5\text{kHz}$, $Q_1^F=33$, $\omega_2^F=2\pi\cdot 51.1\text{kHz}$, $Q_2^F=123$ and $\omega_3^F=2\pi\cdot 139\text{kHz}$, $Q_3^F=266$. $\omega_1^T=2\pi\cdot 75.6\text{kHz}$, $Q_1^T=112$, $\omega_2^T=2\pi\cdot 229\text{kHz}$, $Q_2^T=290$, donde los subíndices denotan el modo de vibración y los superíndices F y T si se corresponde con un modo flexural o torsional, respectivamente.

Nuestros resultados indican que el factor de calidad aumenta con el índice del modo de vibración y que los modos torsionales tienen unas frecuencias de resonancia y unos factores de calidad mayores que sus homónimos flexurales, de acuerdo con estudios previos [20]. Con el fin de una mayor claridad en la exposición de los resultados vamos a proceder primero a estudiar por separado los modos flexurales, dejando el estudio del primer modo torsional a parte. Comenzaremos el estudio con el caso en el que se ha depositado un grupo de bacterias en el extremo libre de la palanca, fig. 5.12.

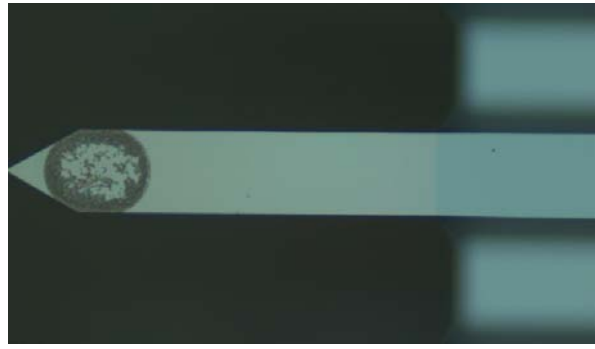
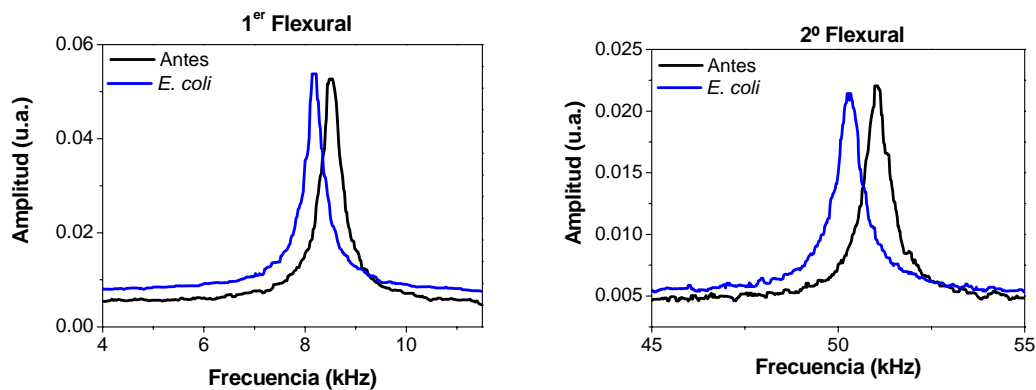


Figura 5.12. Fotografía correspondiente a una palanca en cuyo extremo libre se ha depositado una gota de solución acuosa con bacterias.

La figura 5.13 muestra los picos de resonancia de los tres primeros modos flexurales de vibración para esta palanca antes y después de la deposición.



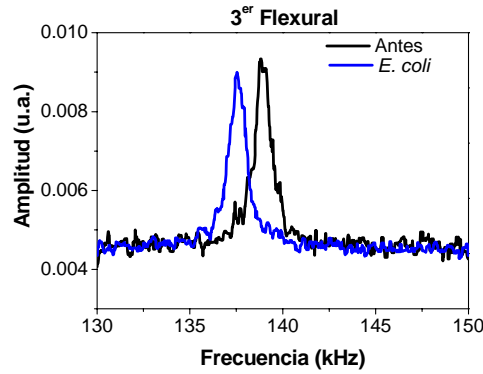


Figura 5.13. Espectros de la resonancia antes (línea negra) y después (línea azul) de la deposición de bacterias en el extremo libre de la palanca de los tres primeros modos flexurales de vibración.

Tal y como se puede apreciar en las gráficas anteriores, figura 5.13, el cambio relativo de frecuencia de resonancia medido para el primer modo flexural de la palanca es de -3.96%, para el segundo modo es igual a -1.47%, mientras que para el tercer modo es -0.98%. En este caso, tal y como vemos, no se cumple la predicción de la aproximación del oscilador armónico de que el cambio relativo de frecuencia de resonancia se mantiene constante para todos los modos superiores de vibración.

A continuación procedemos a analizar los resultados correspondientes al caso en el que se depositan las bacterias en el medio de la palanca, figura 5.14

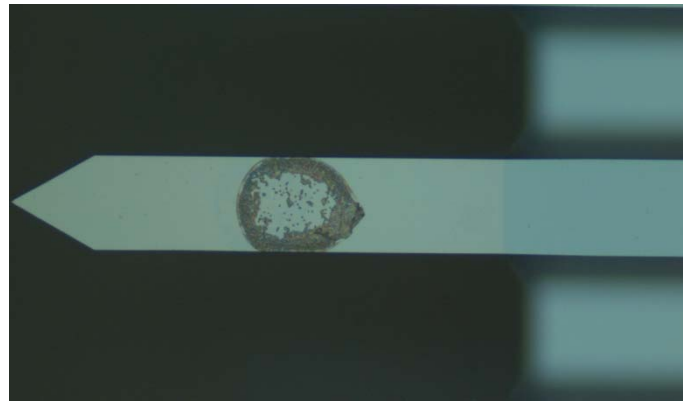


Figura 5.14. Fotografía correspondiente a una palanca en cuyo punto medio se ha depositado una gota solución acuosa con bacterias.

La medida de los picos de resonancia antes y después se recoge en la figura 5.15. El desplazamiento en frecuencia del primer modo de vibración es prácticamente nulo, es negativo para el segundo modo -1.45%, y negativo también para el tercero, -0.44%. Cabe destacar en este punto que hemos depositado una masa considerablemente grande sobre la palanca y la respuesta del primer modo de oscilación es prácticamente nula.

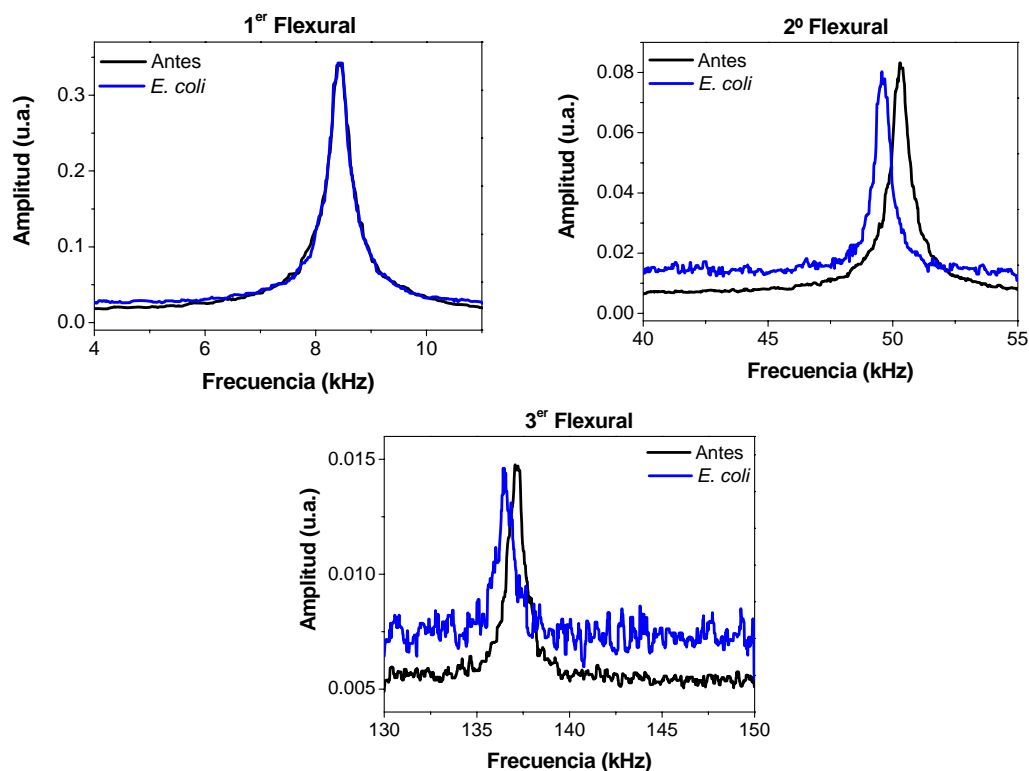


Figura 5.15. Espectros de resonancia antes (línea negra) y después (línea azul) de la deposición de bacterias en el punto medio de la palanca de los tres primeros modos flexurales de vibración.

Concluimos este estudio con el caso en el cual las bacterias están adsorbidas en el extremo fijo de la palanca, figura 5.16.

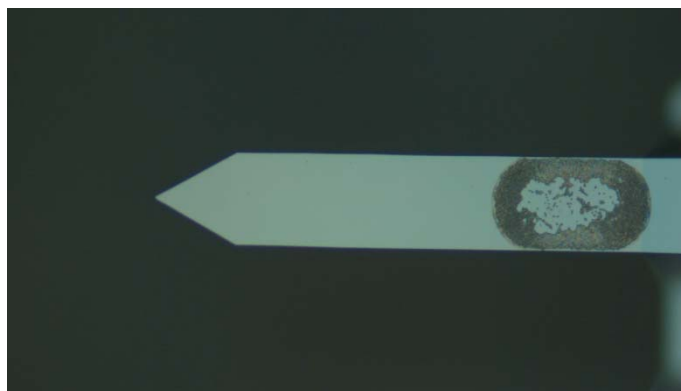


Figura 5.16. Fotografía correspondiente a una palanca en cuyo extremo fijo se ha depositado una gota de solución acuosa con bacterias.

En este caso, tal y como muestran los espectros medidos en la figura 5.17, el cambio de la frecuencia de resonancia para el primer modo flexural de oscilación es positivo, concretamente +3.59%, es nulo para el segundo modo y negativo para el tercero, -2.03%.

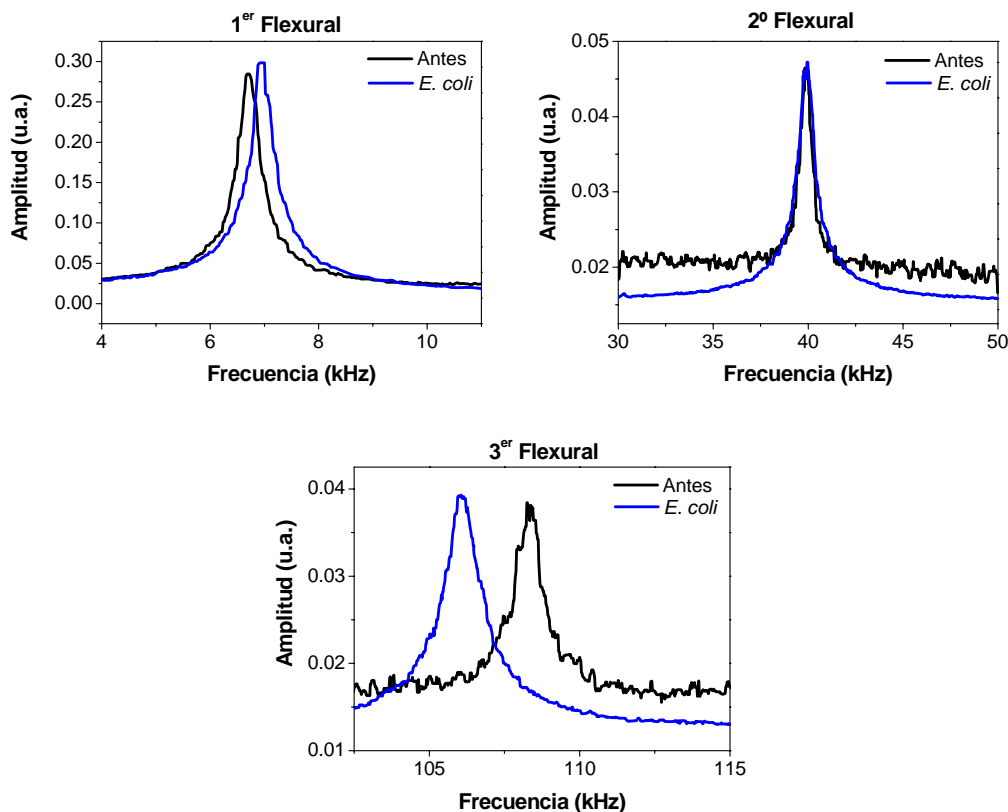


Figura 5.17. Espectros de resonancia antes (línea negra) y después (línea azul) de la deposición de bacterias en el extremo fijo de la palanca de los tres primeros modos flexurales de vibración.

Pero la técnica de deposición utilizada permite una resolución en el posicionamiento de las gotas todavía mayor, con lo que tras observar en detalle los casos más relevantes, podemos extender la exploración experimental a los casos intermedios, fig. 5.18.

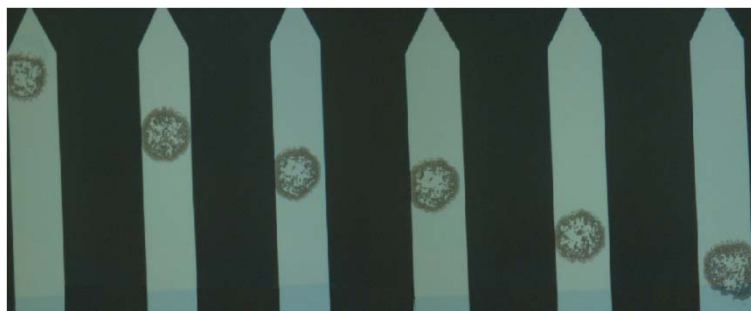


Figura 5.18. Deposición controlada de bacterias en diferentes posiciones a lo largo de las palancas correspondientes a una matriz.

En la figura 5.19, se recogen los resultados de la medida del cambio en la frecuencia de resonancia para los tres primeros modos flexurales de oscilación, así como el primer modo torsional para varias posiciones de deposición de las bacterias.

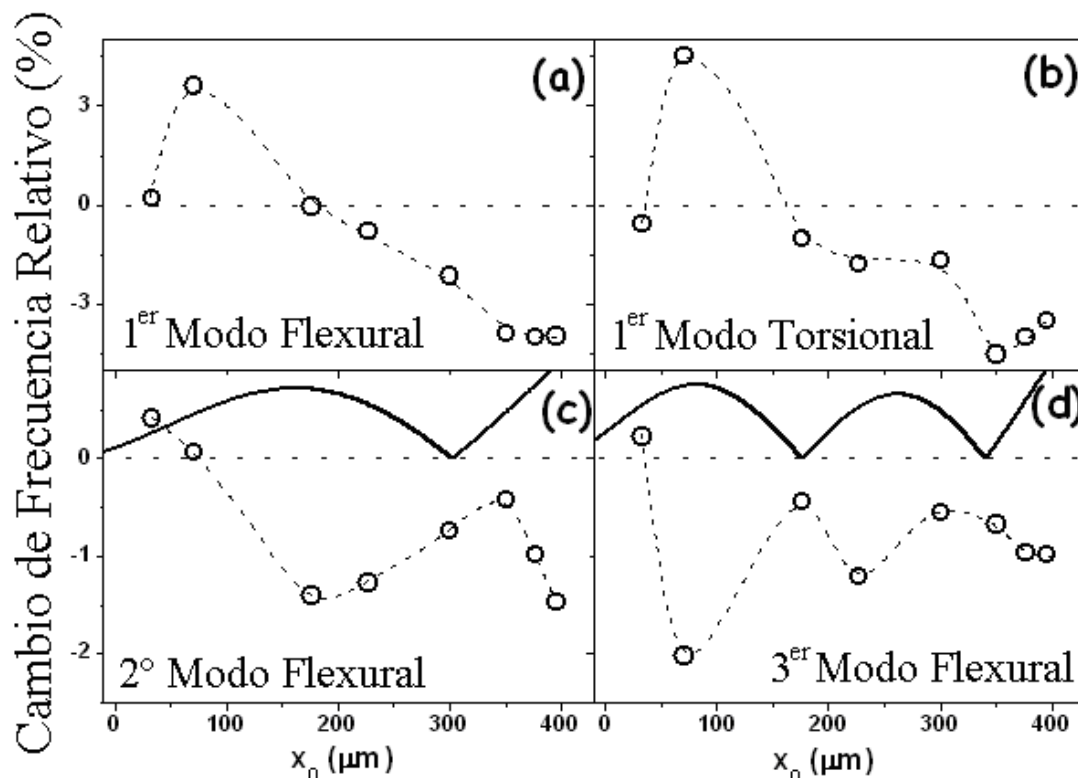


Figura 5.19. Medida experimental del cambio relativo de frecuencia de resonancia para los tres primeros modos flexurales de vibración (a, c y d) y el primer modo torsional (b) en función de la posición a lo largo de la palanca en la que se depositan las gotas. El extremo fijo se encuentra en la posición $x = 0$.

En la figura anterior representamos el cambio de frecuencia relativo en función de la posición a lo largo de la palanca en la cual depositamos las gotas. En este caso, el origen se ha fijado en el extremo fijo de la palanca. Nótese que pese a que las palancas tienen $500\mu\text{m}$ de largo no hay ningún punto más allá de $400\mu\text{m}$, esto es debido al diámetro finito de las gotas, recordemos que fue estimado en unas $120\mu\text{m}$. La línea continua que se ha incluido en las secciones 5.19.c y 5.19.d representa de forma esquemática la forma de los modos flexurales segundo y tercero respectivamente. Las líneas punteadas que unen los puntos se corresponden con interpolaciones polinomiales, sólo válidas para mostrar la tendencia que siguen los datos.

5.6. MODOS FLEXURALES FRENTE A TORSIONALES

La figura 5.19.a y 5.19.b muestra la variación relativa de frecuencia de resonancia del primer modo flexural y torsional en función de la posición de adsorción a lo largo de la palanca x_0 . Las bacterias adsorbidas ocupan una región aproximada de $100\mu\text{m}^2$. Ambos modos de vibración exhiben un comportamiento similar. La mayor respuesta en frecuencia se alcanza cuando las bacterias se depositan cerca de los extremos, ya sea el extremo fijo o el extremo libre. Sin embargo, el signo del cambio de frecuencia es opuesto en ambos casos, siendo positivo para las bacterias depositadas cerca del extremo fijo y negativo para la deposición en el extremo libre.

5.7. MODO FUNDAMENTAL FRENTE A MODOS SUPERIORES

Las figuras 5.19.c y 5.19.d muestran las variaciones relativas de la frecuencia de resonancia para el segundo y el tercer modo flexural en función de x_0 . Exceptuando las posiciones muy cercanas a la base, los cambios en la frecuencia de resonancia son siempre negativos. Además, estos cambios son siempre menores que en el caso del modo fundamental de vibración. Con el fin de profundizar todavía más en la naturaleza de la respuesta en frecuencia de la palanca, se ha dibujado el valor absoluto de la amplitud de oscilación del modo en cuestión. Tal y como se puede observar en la figura, los máximos relativos del desplazamiento absoluto de frecuencia se localizan cuando las gotas se encuentran cerca de los nodos, es decir, en los puntos en los cuales la amplitud de oscilación es mínima, pero la curvatura es máxima. Estos resultados sugieren que la masa añadida domina el cambio de frecuencia en las regiones de la palanca en las cuales la amplitud de oscilación es máxima. En las regiones cercanas a los nodos de vibración existe otro tipo de mecanismo diferente por el cual prácticamente se cancela la contribución de la masa. Sin embargo, cuanto mayor sea el modo de vibración más pequeño tiende a ser este efecto debido a que las bacterias ocupan una extensión relativamente grande comparada con la separación entre nodo-antinodo.

5.8. ORIGEN DE LA RESPUESTA NANOMECÁNICA

Tal y como señalan numerosos estudios previos, la tensión superficial inducida por una adsorción molecular podría tener una gran influencia en la frecuencia de resonancia [16, 24, 25]. Sin embargo, este efecto todavía es objeto de gran controversia en la comunidad científica y será tratado con más detalle a lo largo de la presente tesis. Hasta la fecha han sido propuestos dos modelos diferentes para explicar la posible relación entre la tensión y la frecuencia de resonancia de una micropalanca. El primero de ellos simplifica la tensión como una fuerza axial ejercida sobre el eje de la palanca [26,27]. Este modelo predice cambios en la frecuencia de resonancia por unidad de tensión superficial ($\text{N}\cdot\text{m}^{-1}$) de aproximadamente un 1% para el tipo de palancas que utilizamos en estos experimentos. Para medir la tensión superficial generado por la adsorción de bacterias sobre la superficie de la palanca hemos utilizado la técnica de perfilometría descrita en la sección 3.5.1 del capítulo primero [28]. En la figura 5.20 se muestra el perfil de la palanca mostrada en la fotografía 5.12, tomado antes y después de la deposición de bacterias en el extremo libre.

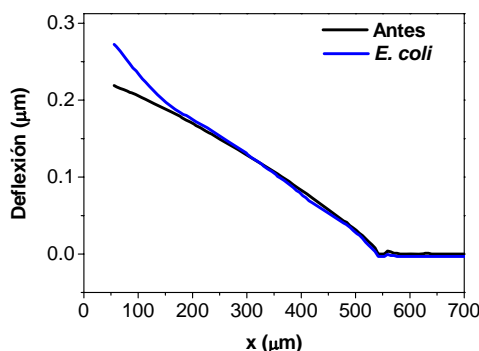


Figura 5.20. Medida experimental del perfil de la palanca tomado antes (curva negra) y después (línea azul) de la deposición de una gota de bacterias en el extremo libre de la palanca.

Nuestras medidas indican cambios en la tensión superficial de la palanca de $0.05 - 0.10 \text{ N}\cdot\text{m}^{-1}$, que no es suficiente para explicar los cambios en la frecuencia de resonancia medidos experimentalmente utilizando este modelo.

El segundo modelo teórico que trata el tema de la relación entre la tensión superficial y la frecuencia de resonancia establece que no existe dicha relación. Para llegar a esta conclusión asume de nuevo que la tensión se puede simplificar como una fuerza axial, pero que se libera a través de la deformación del extremo libre. De hecho, los defensores de este modelo teórico argumentan que el suponer que dicha fuerza axial exista físicamente contraviene la tercera ley de Newton [29]. Siguiendo este modelo, el único posible efecto de la tensión sobre la frecuencia de vibración de la palanca vendría dado a través de la componente de la tensión dependiente de la deformación [30]. Este efecto introduce cambios en la frecuencia de resonancia menores de 10 partes por millón, que son órdenes de magnitud menores que los desplazamientos observados experimentalmente.

5.9. MODELO TEÓRICO: MODOS FLEXURALES

Con el fin de explicar los resultados observados vamos a fijar nuestra atención de nuevo en la ecuación de Euler-Bernoulli, que recordemos que es la que gobierna las vibraciones transversales de la palanca. De una forma simplificada se puede escribir como

$$(\rho_c S_c + \lambda(x)) \frac{\partial^2 u(x,t)}{\partial t^2} + \frac{\partial^2}{\partial x^2} \left[D^F(x) \frac{\partial^2 u(x,t)}{\partial x^2} \right] = 0 \quad (5.2)$$

donde u es el desplazamiento transversal de la palanca, x es la coordenada longitudinal, t es el tiempo, ρ_c es la densidad de masa de la palanca, S_c la sección transversal, $\lambda(x)$ la masa adsorbida por unidad de longitud y $D^F(x)$ la rigidez flexural de la palanca. Nótese que en esta ecuación se ha tenido en cuenta que la suma de fuerzas que actúan sobre la palanca es cero.

Ya hemos visto que el único efecto que tiene la masa añadida a la palanca, tal y como se describe en la aproximación del oscilador armónico, es desplazar la resonancia de la palanca hacia frecuencias más bajas, con lo cual no es suficiente para explicar los resultados que hemos obtenido experimentalmente. Como hemos visto la posible influencia que tiene la tensión, suponiendo que tenga alguna, en este caso es muy pequeña, de ahí que la ecuación anterior esté igualada a cero, la única posible variación de la frecuencia estaría contenida en la rigidez flexural. Por tanto, vamos a centrar nuestra atención en calcular cómo varían las propiedades mecánicas de la palanca en función de las propiedades de los objetos depositados encima.

Para ello primero debemos calcular el eje neutro del sistema palanca – material depositado. El eje neutro se define como la línea longitudinal de la palanca que mantiene su longitud original durante la deflexión. La figura 5.21 representa un elemento diferencial de la palanca antes y después de la deflexión. Tal y como se puede apreciar en la misma, la parte de la palanca que se encuentra localizada por encima del eje neutro se dilata y se deforma, mientras que lo que está por debajo se comprime

deformándose en sentido contrario. El eje neutro, por tanto, representa la frontera entre las dos zonas de tensión longitudinal opuestas.

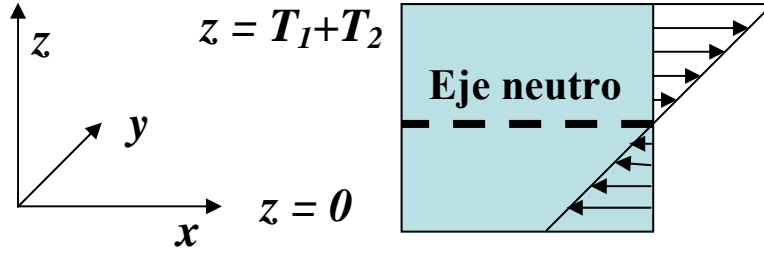


Figura 5.21. Elemento diferencial de la palanca que muestra la posición de su eje neutro. Además se incluye el eje de coordenadas que hemos utilizado para la deducción posterior.

La posición del eje neutro se calcula de manera sencilla, igualando a cero las tensiones longitudinales a lo largo de la palanca. Para el caso de dos materiales se calcula como la solución de la siguiente ecuación integral a lo largo del espesor de la palanca

$$\int_0^{T_1} E_1(z-a)dz + \int_{T_1}^{T_1+T_2} E_2(z-a)dz = 0 \quad (5.3)$$

donde T es el espesor de cada capa, E el módulo de Young, a la coordenada transversal del eje neutro y los subíndices 1 y 2 hacen referencia a las diferentes capas. Esta ecuación establece que la tensión integrada sobre la sección transversal de la palanca tiene que ser cero, puesto que de otra manera existiría sobre el sistema una fuerza neta no nula y no se podría alcanzar el equilibrio. Por tanto, el eje neutro de una palanca compuesta por dos capas de materiales diferentes vendrá dado por la siguiente expresión

$$a = \frac{E_1 T_1^2 + E_2 T_2 (2T_1 + T_2)}{2(E_1 T_1 + E_2 T_2)} \quad (5.4)$$

donde se ha tenido en cuenta el eje de coordenadas que se muestra en la figura 5.20.

De este modo, podemos calcular la rigidez flexural del conjunto, palanca más masa adsorbida, suponiendo que es una bicapa [31, 32] como

$$D^F = W \left[\int_0^{T_1} E_1(z-a)^2 dz + \int_{T_1}^{T_1+T_2} E_2(z-a)^2 dz \right] \quad (5.5)$$

Resolviendo esta integral para el caso que nos ocupa llegamos a la siguiente expresión

$$D^F(x) = \frac{W}{12} \frac{E_C^2 T_C^4 + E_b^2 T_b^4(x) + 2E_C E_b T_C T_b(x) [2T_C^2 + 2T_b^2(x) + 3T_C T_b(x)]}{E_C T_C + E_b T_b} \quad (5.6)$$

donde los subíndices C y b se refieren a la palanca y las bacterias respectivamente. Se ha introducido una dependencia en x del espesor de la capa de bacterias para hacer notar que la deposición puede no ser homogénea. Esto constituye un factor muy importante a la hora de la aplicación de la expresión anterior, ya que la hace válida tanto para el caso de la deposición homogénea como en el de la deposición en zonas a lo largo de la palanca.

5.9.1. El Método de Rayleigh: Modos Flexurales

En 1877 fue publicada la primera edición del trabajo de Lord Rayleigh “Theory of sound” [33]. El primer volumen estaba dedicado a los conceptos de vibración y las matemáticas subyacentes y contenía seis capítulos que trataban con las vibraciones de cadenas, barras, palancas, membranas, láminas y armazones. El segundo volumen publicado un año después utilizaba estos conceptos aplicándolos a acústica [34].

La mayor parte de los problemas que se tratan en el primer volumen comienzan deduciendo la ecuación de movimiento del sistema, resolviéndola por métodos clásicos y aplicando condiciones de contorno para obtener las frecuencias de vibración y la forma de los modos de las oscilaciones libres. Sin embargo, Lord Rayleigh también estaba interesado en el cálculo de las energías cinética y potencial de los sistemas y, en algunos casos, atacaba los problemas desde esa perspectiva. En particular, en la mayor parte de los casos, asumía un modo de vibración y calculaba la frecuencia de vibración libre igualando las energías cinética y potencial durante un ciclo de vibración. Esta forma de cálculo se ha generalizado hasta tal punto que se conoce como *método de Rayleigh*. La exactitud del método depende cómo de precisa sea la determinación del modo de vibración.

En 1908 y 1909 Walter Ritz publicó dos artículos donde demostraba un procedimiento directo para el cálculo numérico de la solución de problemas de autovalores y condiciones de contorno con la precisión deseada utilizando funcionales de energía [35, 36]. Para el problema de autovalores de la vibración libre, asume la función desplazamiento en términos de una serie de funciones desplazamiento admisibles, que son aquellas que por lo menos satisfacen las condiciones de contorno geométricas del problema. Estas funciones van precedidas de coeficientes que se determinan minimizando el funcional de energía (suma de las energías potencial y cinética), con lo que se determinan las frecuencias y los modos. El primer artículo [35] sienta las bases del método y los conceptos subyacentes, discute la convergencia de las soluciones y lo aplica a diferentes problemas. El segundo [36], mucho más corto, aplica el método para calcular resultados nuevos de las vibraciones de una lámina cuadrada libre. Poco después de la publicación de este artículo Walter Ritz murió de tuberculosis, motivo por el cual su trabajo fue continuado por Courant [37]. Los trabajos completos de Ritz fueron recogidos en un solo tomo y publicados de manera póstuma [38].

Pese a que el método de Rayleigh se utiliza de forma común, el método de Ritz ha recibido una gran atención en los últimos treinta años para obtener de forma precisa las frecuencias y los modos de vibración de sistemas continuos, especialmente para aquellos problemas que no tienen una solución fácil de forma analítica. Este método se ha visto especialmente beneficiado del aumento de la capacidad de las computadoras para resolver los determinantes de las frecuencias que surgen del método.

En los problemas de vibración usuales, los autores normalmente unen el nombre de Rayleigh llamando al método de resolución *método de Rayleigh-Ritz*. Esto es debido a que el método de Rayleigh se puede considerar como un caso especial del método de Ritz cuando sólo tenemos una función admisible en el funcional utilizado para describir la vibración. El método de Rayleigh es, por tanto, mucho más directo y sencillo porque no es necesario tomarse la molestia de escribir la ecuación de minimización de Ritz.

En nuestro caso particular, las oscilaciones flexurales de una viga, la energía potencial, W_s , se deduce como

$$W_s^F = \frac{1}{2} \int M_B d\alpha = \frac{1}{2} \int D^F(x) \left(\frac{d^2 u(x,t)}{dx^2} \right)^2 dx \quad (5.7)$$

donde M_B es el momento de curvatura y α es el ángulo de deflexión. A partir de la ecuación 5.7 se puede obtener el máximo de la energía potencial, siempre que el desplazamiento vertical u sea la amplitud de la curva de la deflexión durante la oscilación, integrando en el periodo.

La energía cinética del sistema, que recordemos está compuesto de la viga y las bacterias que están depositadas sobre la misma viene dada por la siguiente expresión

$$W_k^F = \frac{1}{2} \int \left(\frac{\partial u(x,t)}{\partial t} \right)^2 dm \quad (5.8)$$

donde el diferencial es sobre la masa, que depende del punto sobre la palanca en el que nos encontremos, con lo que se puede escribir de la siguiente manera

$$W_k^F = \rho W T \int_0^L \left(1 + \frac{\rho_a}{\rho} \frac{T_a(x)}{T} \right) \left(\frac{\partial u(x,t)}{\partial t} \right)^2 dx \quad (5.9)$$

Podemos asumir sin pérdida de generalidad que la vibración transversal de la palanca es aproximadamente armónica, con lo que podemos escribir el desplazamiento vertical como

$$u(x,t) = \psi_n(x) \cos(\omega_n t + \varphi) \quad (5.10)$$

donde $\psi_n(x)$ es el modo de vibración, n es el índice del modo y ω_n y φ son respectivamente la frecuencia y la fase de la oscilación. De este modo, tenemos que la velocidad vertical es igual a

$$\frac{\partial u(x,t)}{\partial t} = \omega_n \psi_n(x) \cos\left(\omega_n t + \varphi \pm \frac{\pi}{2}\right) \quad (5.11)$$

Igualando las energías cinética y potencial promedio por ciclo de vibración podemos extraer el valor de la frecuencia de resonancia como

$$\left(\omega_n^F\right)^2 = \frac{\int_0^L D^F(x) \left(\frac{\partial^2 \psi_n(x)}{\partial x^2} \right)^2 dx}{\rho W T \int_0^L \left(1 + \frac{\rho_a}{\rho} \frac{T_a(x)}{T} \right) \psi_n^2(x) dx} \quad (5.12)$$

donde el superíndice F indica que estamos calculando las frecuencias flexurales de vibración. Tal y como hemos venido afirmando, la exactitud del método depende de cómo de precisa sea la determinación de la curva de deflexión $\psi(x)$. La solución del método de Rayleigh sería, por tanto, exacta si conociéramos los modos de vibración.

Como no podemos resolver de forma analítica la ecuación diferencial de vibración, ecuación 5.2, para calcular los modos tendríamos que resolver la ecuación por tramos introduciendo nuevas condiciones de contorno. Sin embargo, podemos obtener una solución aproximada utilizando los modos correspondientes a las oscilaciones de una palanca libre, esto es, sin cargas de ningún tipo, ver sección 2.4 del Capítulo 1, ecuación 5.13

$$\psi_n(x) \Rightarrow \psi_n^0(x) = A_n \left[\sin k_n^F x - \sinh k_n^F x + \frac{(\sin k_n^F L + \sinh k_n^F L)(\cosh k_n^F x - \cos k_n^F x)}{\cos k_n^F L + \cosh k_n^F L} \right] \quad (5.13)$$

donde el superíndice 0 indica que estamos tratando con los modos correspondientes a la palanca libre de cargas.

5.10. MODELO TEÓRICO: MODOS TORSIONALES

El razonamiento utilizado para llegar a la expresión final de la frecuencia de resonancia torsional en función de la masa y la rigidez de la capa adsorbida es similar al caso anteriormente explicado. Sin embargo, existen ciertas diferencias debidas a la naturaleza del movimiento de torsión de la palanca.

En este caso, con el fin de simplificar la deducción de la expresión final, utilizaremos como primera aproximación que la anchura de la palanca es mucho mayor que la suma de los espesores de cada capa, lo cual es perfectamente válido en nuestro caso experimental, donde recordemos que la anchura de la palanca es cien veces superior al espesor de la misma. Además, supondremos que los ángulos de torsión son pequeños, suposición igualmente válida puesto que experimentalmente estamos midiendo el ruido térmico de la palanca, con lo que las amplitudes de oscilación son unos 7 órdenes de magnitud menores que el espesor. De este modo tenemos que la ecuación diferencial que gobierna la vibración torsional tiene la siguiente forma [39]

$$D^T(x) \frac{\partial^2 \theta(x,t)}{\partial x^2} = (\rho_c J_c + \rho_b J_b(x)) \frac{\partial^2 \theta(x,t)}{\partial t^2} \quad (5.14)$$

donde D^T es la rigidez torsional, θ es el ángulo de torsión de la palanca y J_C y J_b son, respectivamente, los momentos polares de inercia de la palanca libre de cargas y del material adsorbido, que vienen dados por [40]

$$J_C = \frac{1}{12} (W^3 T_C + W T_C^3)$$

$$J_b = \frac{1}{12} (W^3 T_b(x) + W T_b(x)^3)$$

La ecuación de movimiento 5.14 asume que cada sección transversal rota como si fuera un sólido rígido, esto es, que la sección transversal no sufre ninguna deformación. Además, en esta ecuación, se considera que la tasa de cambio del ángulo de torsión con la longitud, $\partial\theta(x,t)/\partial x$ es constante. Por último, presupone que las secciones transversales, que recordemos que mantienen su forma, pueden deformarse únicamente a lo largo del eje x, siendo esta deformación independiente de dicho eje. En la figura 5.22.a se muestra una simulación por elementos finitos de la torsión de una viga

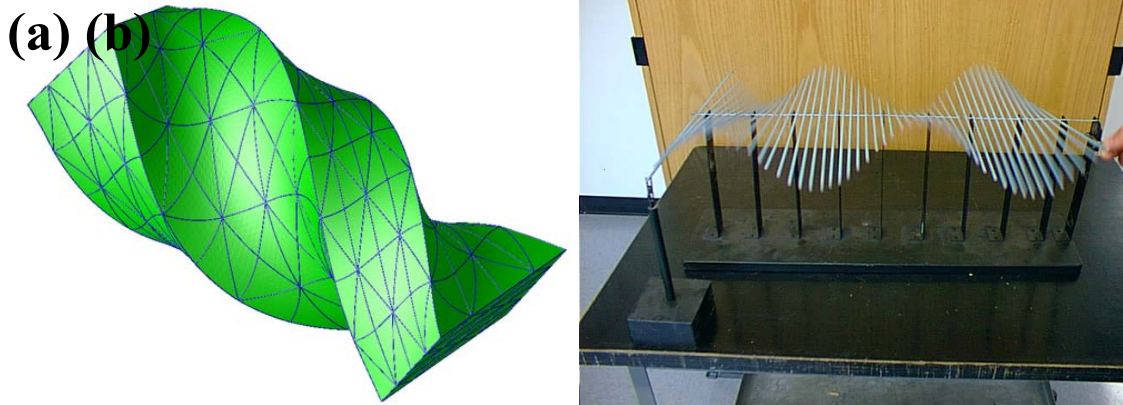


Figura 5.22.a. Simulación por elementos finitos de la torsión de una viga. b . Transmisión de ondas de torsión a lo largo de una estructura flexible.

La figura 5.22.b muestra cómo se transmiten las ondas torsionales libres a través de una estructura flexible. En esta figura se explica la tercera restricción impuesta por la ecuación 5.14, ya que la sección transversal de la palanca, en este caso las varillas permanecen sin deformar, sin embargo, a lo largo del eje x sí que se observa una deformación que se transmite a lo largo de toda la estructura.

Utilizando estas restricciones impuestas por nuestra aproximación inicial calcularemos la rigidez torsional. Para ello vamos a utilizar la analogía de la membrana introducida por Prandtl [41]. Concretamente Prandtl probó en 1903 que la forma que adopta la membrana puede relacionarse con una función de tensiones cuyas derivadas dan las tensiones tangenciales en cada dirección [42]. De este modo tenemos que

$$D^T(x) = \frac{W}{3} \frac{G_C^2 T_C^4 + G_b^2 T_b^4(x) + 2G_C G_b T_C T_b(x) [2T_C^2 + 2T_b^2(x) + 3T_C T_b(x)]}{G_C T_C + G_b T_b} \quad (5.15)$$

donde G_C y G_b son respectivamente los módulos de cizalla de la palanca y del material adsorbido respectivamente. El módulo de cizalla se relaciona con el módulo de Young mediante la siguiente expresión

$$E = 2G(1 + \nu)$$

donde ν es el coeficiente de Poisson de cada capa. Nótese la analogía existente entre las expresiones de la rigidez flexural y torsional ecuaciones 5.6 y 5.15. De hecho, la expresión de la rigidez torsional es idéntica a la de la rigidez flexural cambiando el momento de inercia por el momento polar de inercia y el módulo de Young por el módulo de cizalla.

5.10.1. El Método de Rayleigh: Modos Torsionales

De la misma forma que sucedía en el caso de los modos flexurales, tenemos que no existe una solución continua para la ecuación diferencial de la torsión de la palanca. Por lo que tendríamos que recurrir de nuevo a la solución por tramos introduciendo nuevas condiciones de contorno o al método de Rayleigh.

Tal y como se explicó en la sección correspondiente de los modos flexurales, el método de Rayleigh es tanto más preciso cuanto mejor aproximemos la curva de deflexión de la palanca. Sólo que en este caso la ecuación diferencial no nos proporciona directamente la deflexión de la palanca, sino que describe el ángulo de torsión en función de la coordenada longitudinal de la palanca (véase Apéndice B). Resolviendo la parte espacial de la ecuación 5.14 con las siguientes condiciones de contorno

$$\begin{aligned} \theta(x)|_{x=0} &= \Theta_0 \\ D^T(x) \frac{\partial \theta(x)}{\partial x} \Big|_{x=L} &= 0 \end{aligned} \quad (5.16)$$

llegamos a la siguiente solución

$$\Theta_n(x) = \Theta_0 \left(\tan(k_n^T L) \sin(k_n^T x) + \cos(k_n^T x) \right) \quad (5.17)$$

donde Θ_0 es el valor inicial del ángulo de torsión. Los autovalores torsionales, k_n^T , son los polos de la siguiente condición de contorno

$$\theta(t, x=L) = \frac{\Theta_0}{\cos(k_n^T L)} \quad (5.18)$$

Los polos de esta ecuación corresponden a $\cos(k_n^T L) = 0$, por lo que tenemos que

$$k_n^T = \frac{2n-1}{2L} \pi$$

donde n es el índice del modo. La vibración torsional se puede escribir de forma armónica como

$$\theta(x,t) = A\Theta_n(x)\cos(\omega_n^T t + \beta) \quad (5.19)$$

De tal forma que podemos considerar que $\Theta_n(x)$ representa la forma del n -ésimo modo torsional de vibración de la palanca, ω_n^T es la frecuencia angular de vibración del modo torsional y β es una fase arbitraria. Utilizando la misma metodología empleada en los modos flexurales, calculamos la energía potencial como

$$W_s^T = \frac{1}{2} \int_0^L D^T(x) \left[\frac{\partial \theta(x,t)}{\partial x} \right]^2 dx \quad (5.20)$$

Mientras que la energía cinética en función del tiempo viene dada por la siguiente expresión

$$W_k^T = \frac{1}{2} \int_0^L (\rho_c J_c + \rho_b J_b(x)) \left[\frac{\partial \theta(x,t)}{\partial t} \right]^2 dx \quad (5.21)$$

De esta forma, igualando las energías potencial y cinética promediadas en un ciclo de oscilación, ecuaciones 5.20 y 5.21, y asumiendo una oscilación armónica, ecuación 5.19, llegamos a que la frecuencia de resonancia de los modos torsionales de la palanca se puede escribir como

$$(\omega_n^T)^2 = \frac{\int_0^L D^T(x) \left[\frac{d\Theta_n(x)}{dx} \right]^2 dx}{\rho_c J_c \int_0^L \left[1 + \frac{\rho_b J_b(x)}{\rho_c J_c} \right] \Theta_n(x)^2 dx} \quad (5.22)$$

5.11. RESULTADOS TEÓRICOS

Hemos aplicado las ecuaciones 5.12 y 5.22 para estimar el cambio de frecuencia de resonancia de los tres primeros modos flexurales y el primero torsional de las palancas utilizadas en los experimentos. Nótese que, tal y como se muestra en la figura 5.9, las palancas que hemos utilizado tienen el extremo libre con forma triangular. No obstante, con el fin de simplificar los cálculos teóricos se ha optado por calcular la longitud efectiva que tendría una palanca rectangular con la misma frecuencia de resonancia, figura 5.23.

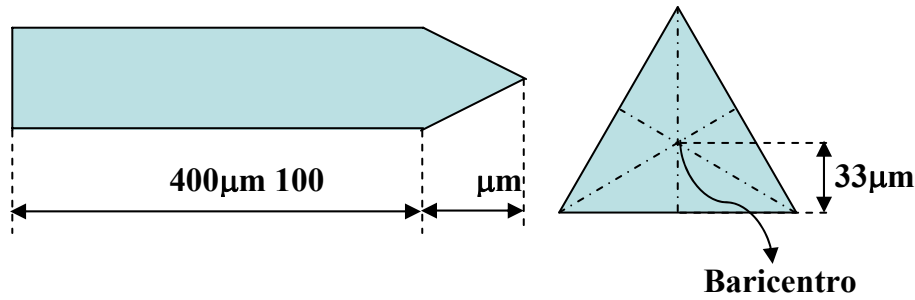


Figura 5.23. Cálculo de la longitud efectiva de una palanca cuyo extremo es triangular.

Para ello calculamos el baricentro correspondiente al triángulo situado en el extremo libre. El baricentro en geometría coincide con la noción física del centro de masas del sistema, por lo que la masa del conjunto no se ve alterada, sólo redistribuida. De acuerdo con la simplificación anterior, la longitud efectiva de nuestras palancas será igual a $433\mu\text{m}$, en lugar de las $500\mu\text{m}$ nominales.

Simularemos las bacterias adsorbidas en la superficie como un cuadrado de $120\mu\text{m}$ de lado. De acuerdo con las estimaciones aportadas por las fotografías, figura 5.9, el número de bacterias depositadas puede variar entre las 4000 y las 5000, atendiendo exclusivamente a la porción de área ocupada por la gota. Una media ponderada de los resultados da como número final 4200 bacterias. La masa de cada bacteria como célula individual es de 665fg [6]. Hemos calculado la altura efectiva de la capa adsorbida igualando el volumen del paralelepípedo al de las 4200 bacterias que, mediante medidas ópticas se calcula unas dimensiones de aproximadamente $1 \times 2 \times 1\mu\text{m}^3$. Haciendo esto obtenemos una altura efectiva de 840nm , menor que el espesor nominal de las bacterias de aproximadamente $1\mu\text{m}$. El módulo de Young de la capa de células utilizado en las simulaciones es de 1GPa , que está dentro del rango de valores que se encuentran en la literatura medidos mediante microscopía de fuerzas atómicas [43]. Las diferencias entre estos valores van desde unas pocas decenas de MPa hasta GPa . Esta variación depende del grado de humedad alcanzado en el entorno. Cuando las bacterias están más hidratadas son más blandas.

Los datos de las propiedades mecánicas de las palancas son los usuales para el caso del silicio, con un módulo de Young de 169GPa y una densidad de 2300 kg m^{-3} . El coeficiente de Poisson de este material varía de unas fuentes a otras dependiendo sobretodo si se trata de silicio monocristalino o policristalino, en nuestro caso el fabricante indica que se trata de un monocristal, lo que le corresponde un coeficiente de Poisson de 0.23.

Introduciendo estos datos en las ecuaciones 5.12 y 5.22 obtenemos el cambio en la frecuencia de resonancia debido a la adsorción de una capa que simula las bacterias sobre la palanca. La figura 5.24 recoge estos cambios en la frecuencia de resonancia para los tres primeros modos flexurales y el primer modo torsional.

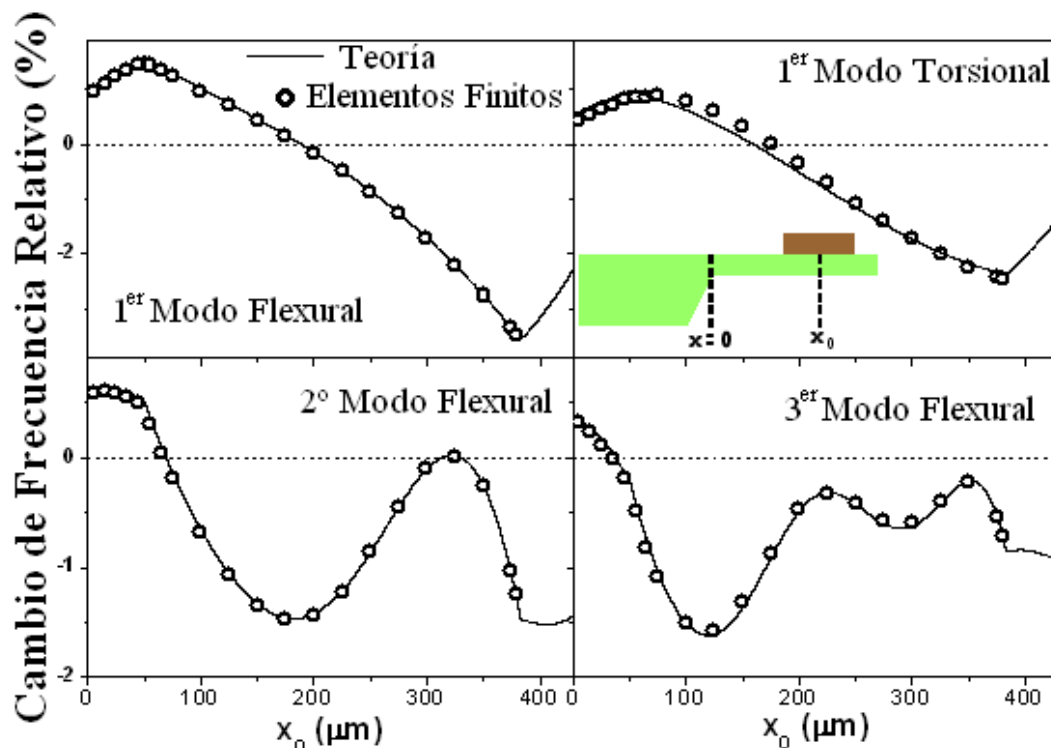


Figura 5.24. Cálculo teórico del cambio relativo de frecuencia de resonancia para los tres primeros modos flexurales de vibración (a, c y d) y el primer modo torsional (b) en función de la posición a lo largo de la palanca en la que se depositan las bacterias. El extremo fijo se encuentra en la posición $x = 0$.

En la figura 5.24 los resultados analíticos, ecuaciones 5.12 y 5.22, se representan por líneas, mientras que los símbolos representan los cálculos por elementos finitos de los cuales hablaremos con más detenimiento en la próxima sección. Estos resultados muestran los mismos aspectos fundamentales que los presentados en los resultados experimentales, figura 5.19. Nótese en esta figura que el tamaño finito de la gota de bacterias se aprecia en la bajada de la frecuencia de resonancia, en valor absoluto, cerca de los dos extremos, esto es especialmente relevante en el caso del primer modo flexural y torsional y se corresponde al caso en el que el centro de la gota, representado por x_0 , sigue en la palanca pero parte de su estructura se ha perdido por el borde de la misma, con lo que tendríamos el efecto de sólo una parte de la gota sobre la palanca.

Por otra parte, la presencia de máximos y mínimos en la figura experimental se puede explicar ahora prestando atención a las ecuaciones 5.12 y 5.22. La adsorción de bacterias sobre la superficie de la palanca tiene dos efectos diferenciados. Por un lado un incremento local de la masa por unidad de longitud de la palanca, lo que induce un desplazamiento de la resonancia de la palanca hacia frecuencias más bajas. Pero por otra parte se puede observar un incremento de la rigidez de la palanca, tanto flexural como torsional, lo que induce un incremento de la frecuencia de resonancia.

Tal y como se puede apreciar en las citadas expresiones, la masa está multiplicada por la amplitud de oscilación de la palanca, mientras que la rigidez está multiplicada por la curvatura de la misma. Tanto para el primer modo flexural como para el primer modo torsional, las regiones de mayor amplitud de oscilación estarán localizadas en el extremo libre de la palanca, por lo que esta zona será más sensible a la presencia de la masa. Sin embargo, la curvatura de la palanca es mayor cerca del

extremo fijo de la misma, lugar que será más sensible a la rigidez de la capa que se adsorbe, tal y como se puede observar en la figura 5.25.

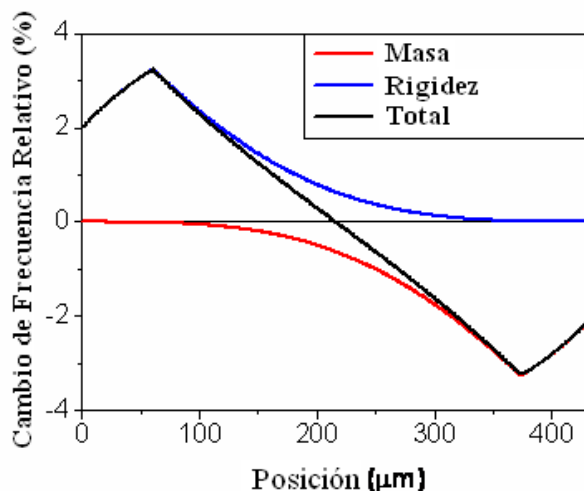


Figura 5.25. Simulación teórica del cambio relativo de frecuencia de resonancia del primer modo flexural de oscilación en función de la posición de la adsorción de bacterias. La línea roja muestra el efecto de la masa de la gota, la línea azul el efecto de la rigidez y la línea negra el efecto combinado. El extremo fijo de la palanca está situado en $x = 0$.

De este modo, a pesar de las diferencias cuantitativas entre la forma de los modos de vibración flexurales y torsionales, se puede concluir que, para el primer modo los cambios en la frecuencia de resonancia de ambos son positivos y dominados por el efecto de la rigidez de las bacterias cuando se depositan cerca del extremo fijo de la palanca; mientras que son negativos y dominados por el efecto de la masa añadida cuando se localizan en el extremo libre de la palanca.

Siguiendo el mismo razonamiento podemos hacer el cálculo desglosado del efecto de la masa y la rigidez de la capa adsorbida para el segundo modo flexural, figura 5.26. Tal y como se puede apreciar en esta figura, el cambio de frecuencia relativo es positivo cerca del extremo fijo de la palanca, haciéndose negativo después, para posteriormente volver a aumentar hasta hacerse cero cerca del final, pero nunca vuelve a cambiar de signo.

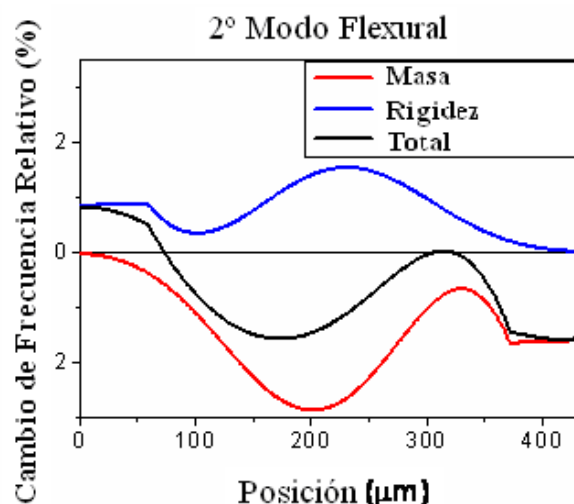


Figura 5.26. Simulación teórica del cambio relativo de frecuencia de resonancia del segundo modo flexural de oscilación en función de la posición de la gota que contiene las bacterias. La línea roja muestra el efecto de la masa de la gota, la línea azul el efecto de la rigidez y la línea negra el efecto combinado. El extremo fijo de la palanca está situado en $x = 0$.

La estructura del cambio de frecuencia relativo para el tercer modo flexural, figura 5.27 es todavía más complejo, ya que existen tres máximos de amplitud de oscilación y de curvatura, lo que complica la respuesta cuantitativa. Sin embargo, tal y como se aprecia en la figura, a pesar de múltiples cambios en la pendiente del efecto total, únicamente es positiva en la región más próxima al extremo fijo de la palanca, siendo esta región más pequeña que en los casos anteriores. Esta tendencia a disminuir el tamaño de la región positiva se acentúa con el índice del modo de oscilación, ya que, cuanto mayor sea el modo, menor separación tendrá entre sus nodos y antinodos de oscilación.

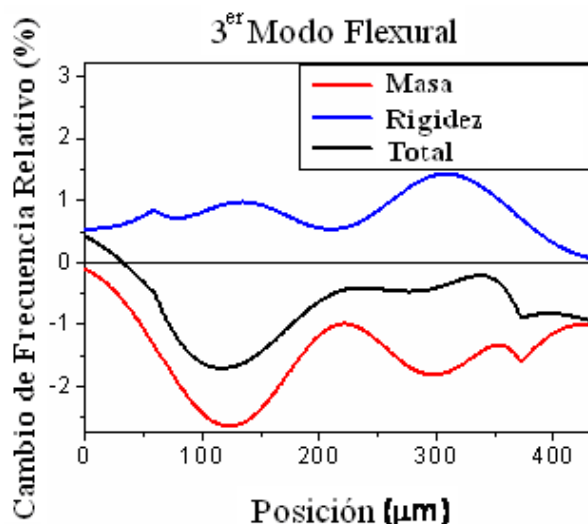


Figura 5.27. Simulación teórica del cambio relativo de frecuencia de resonancia del tercer modo flexural de oscilación en función de la posición de la gota que contiene las bacterias. La línea roja muestra el efecto de la masa de la gota, la línea azul el efecto de la rigidez y la línea negra el efecto combinado. El extremo fijo de la palanca está situado en $x = 0$.

Las discrepancias observadas entre estas simulaciones y los datos experimentales se pueden achacar principalmente a la diferencias entre el número de bacterias entre experimentos. Estas diferencias pueden llegar en algunos casos hasta el 30%. Además, pese a que los experimentos se realizaron en las mismas condiciones medioambientales, podrían existir diferencias entre el módulo de Young de las bacterias, así como en su densidad, debido a pequeñas variaciones en el grado de hidratación de las mismas. Sin embargo, a pesar de la simplicidad del modelo presentado, los experimentos están bien descritos por estas curvas teóricas.

5.12. SIMULACIÓN POR ELEMENTOS FINITOS

Con el fin de comprobar la precisión de nuestros cálculos teóricos, se ha realizado una comprobación por elementos finitos, símbolos en la figura 5.23. La ventaja que presenta este tipo de simulación frente al análisis teórico anterior es que no presupone ningún tipo de simplificación previa. Parte de unos principios fundamentales a partir de los cuales calcula la interacción entre los diferentes elementos en los que se divide la estructura. Precisamente aquí radica uno de los puntos en los que se debe tener más cuidado a la hora de realizar la simulación. Y es que, el resultado es dependiente del mallado utilizado hasta un cierto límite. Cuando dividimos la estructura en elementos muy grandes en comparación con el tamaño de la propia estructura el resultado depende mucho tanto del número de elementos como de su forma. Conforme vamos reduciendo el tamaño de estos elementos el resultado tiende a una constante, llegando un momento en el que no somos capaces de distinguir la diferencia. Sin embargo, el tiempo de cálculo empleado en resolver el problema crece de forma exponencial con el número de elementos. Lo mismo sucede con la forma de los mismos, pudiendo elegir diferentes tipos de elementos, siendo cada uno de ellos adecuado para cada caso independiente. En la figura 5.28 se muestra el tipo de elementos utilizado en la resolución de nuestro problema.

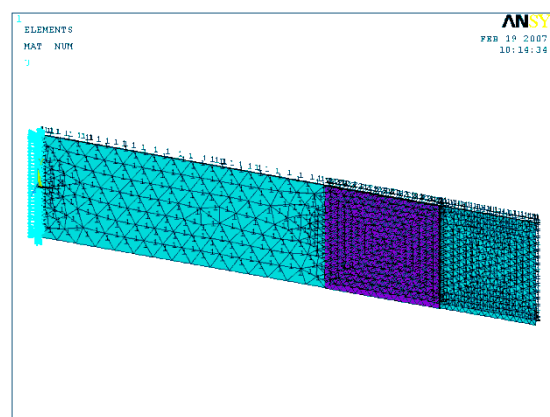


Figura 5.28. Estructura utilizada en las simulaciones por elementos finitos. Se muestra el mallado y la diferencia en el color indica los distintos materiales. La constricción del movimiento en el extremo fijo se representa por flechas de color azul claro.

En este caso, se han utilizado tetraedros de diferentes tamaños para hacer el mallado de la estructura. Tal y como se puede apreciar en la figura anterior, la simulación por elementos finitos se ha realizado utilizando el paquete comercial ANSYS™. Con este programa hemos simulado el comportamiento de una palanca con las mismas dimensiones que las utilizadas en la simulación analítica. Éstas son $L=433,33\mu\text{m}$, $W=100\mu\text{m}$, $T=1\mu\text{m}$. Sobre esta palanca hemos depositado una “gota” con un tamaño lateral de $100\mu\text{m}$, igual que en el caso anterior. No obstante, como ésta es una simulación tridimensional al mantener el tamaño lateral igual que en el caso anterior, hemos convertido la gota que experimentalmente deja una estructura de simetría circular sobre la palanca en un paralelepípedo de base rectangular. Nótese que el tamaño de los elementos es menor cerca de las esquinas y cambios de material. Esto se hace con el fin de ganar precisión en las zonas conflictivas dejando las de comportamiento “normal” con un tamaño menor, lo que mejora órdenes de magnitud el tiempo de cálculo requerido a la hora de hacer la simulación.

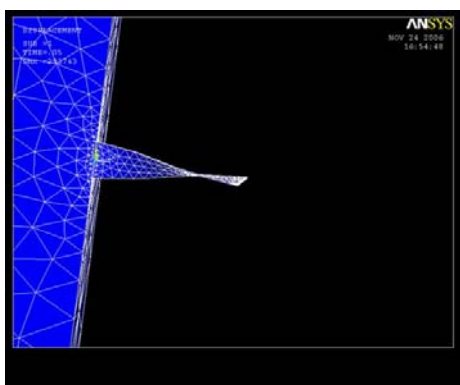


Figura 5.29. Simulación por elementos finitos del primer modo torsional de vibración. En este caso no hay una constricción en el extremo fijo porque simulamos la presencia de un chip.

La figura 5.29 muestra la versatilidad de este tipo de simulaciones ya que podemos incluir un chip a la palanca y comprobar el efecto que tiene sobre los resultados. En la figura anterior, fig. 5.28, con el fin de ahorrar tiempo de cálculo, la presencia del chip se ha sustituido por una constricción del movimiento de la palanca en una de las caras laterales de la palanca dejándola fija, lo que se representa por cruces azules en el dibujo. Sin embargo, en la simulación del primer modo torsional que aparece en la figura 5.24 no hay ninguna constricción del movimiento en ninguna de las superficies de la palanca, únicamente la presencia de un chip que, al presentar una masa nueve órdenes de magnitud mayor que la de la palanca impide el movimiento. A efectos de los resultados obtenidos para la frecuencia de resonancia de la palanca esto es irrelevante, por lo que se ha suprimido del cálculo.

Utilizando entonces la geometría presentada en la figura 5.28, donde las bacterias aparecen en color morado para distinguirlas del material de la palanca, vamos a calcular el cambio relativo de la frecuencia de resonancia cambiando la posición de las bacterias adsorbidas sobre la misma. En la figura 5.24, presentábamos el cálculo analítico de dicho cambio relativo de frecuencia en función del centro de adsorción de bacterias. En dicha figura aparece el cálculo analítico en forma de líneas sólidas, mientras que los resultados correspondientes a la simulación por elementos finitos se presentan en forma de símbolos, en este caso círculos huecos. En esta figura se puede apreciar que existe una correspondencia perfecta en el caso de los tres primeros modos

flexurales de vibración entre nuestro cálculo analítico y su correspondiente simulación por elementos finitos. Sin embargo, existe una pequeña discrepancia entre el cálculo analítico y la simulación por elementos finitos cerca del extremo fijo de la palanca.

Tal y como se ha dejado claro en la sección correspondiente al método de Rayleigh, la precisión del modelo teórico depende de cómo de precisa sea la descripción de la curva de deflexión de la palanca en comparación con la deflexión real que sufre la palanca. Comparando las curvas de deflexión, hemos comprobado que las ecuaciones diferenciales de Euler – Bernouilli describen la vibración de una forma bastante precisa, con una desviación media con respecto a las simulaciones por elementos finitos por debajo del 0.6%. Estas desviaciones se miden como la diferencia relativa entre el área encerrada bajo la curva descrita por ambos métodos. Además, estos estudios comparativos indican que la presencia de bacterias apenas tiene influencia en las curvas de deflexión, por lo que las simplificaciones que hicimos en nuestro cálculo analítico han resultado ser acertadas. En la figura 5.30 mostramos la simulación por elementos finitos del cambio en la curva de deflexión del tercer modo flexural cuando ponemos gotas con bacterias en diferentes posiciones. Tal y como se puede apreciar en la figura, la máxima desviación se observa cuando las bacterias se depositan cerca de los máximos de oscilación. Se ha incluido en la figura dos incisos que muestran una ampliación de dichos máximos. En ellos se muestra que la máxima desviación para el máximo más próximo al extremo fijo de la palanca se observa cuando las bacterias están localizadas en torno a las 100 μm , mientras que en el segundo inciso, que muestra la ampliación del segundo máximo relativo vemos que esta desviación máxima se observa cuando la gota se ha depositado a 250 μm del origen de coordenadas.

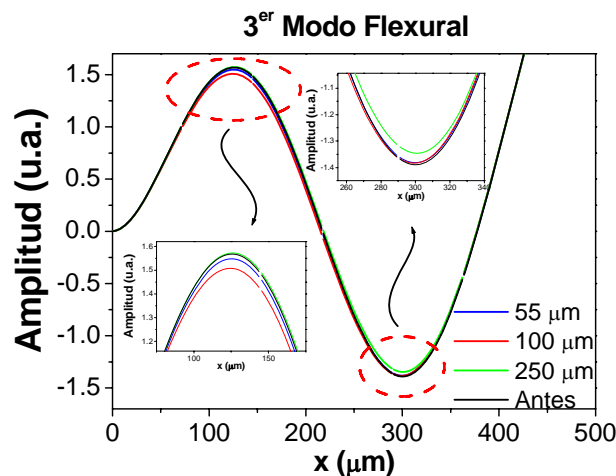


Figura 5.30. Simulación por elementos finitos del cambio en el perfil del tercer modo de vibración flexural en función de la posición de la gota depositada. Vemos que las máximas diferencias aparecen cuando las gotas se depositan cerca de los máximos de amplitud del modo

Sin embargo, la ecuación diferencial que se utiliza para modelar la respuesta de los modos torsionales de vibración proporciona una curva de deflexión que varía un 5.3% con respecto a la simulación por elementos finitos, figura 5.31, lo que origina la variación entre la curva analítica del cambio relativo de frecuencia de resonancia con la posición y el cálculo por elementos finitos, figura 5.23.b.

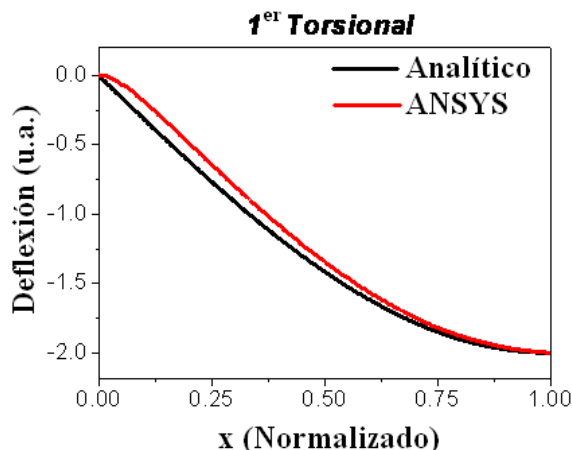


Figura 5.31. Comparación entre la forma del primer modo torsional calculado de forma analítica y por elementos finitos. Ambas curvas están normalizadas para una comparación más sencilla.

5.13. LÍMITE TERMOMECÁNICO

La pregunta natural que surge al trabajar con un sensor biológico es cuál es el número mínimo de bacterias que podemos detectar con este dispositivo. Con el fin de responder a esta pregunta vamos a medir la frecuencia de resonancia de la palanca en función del número de bacterias sobre la misma. La figura 5.32 muestra cómo varía la frecuencia de resonancia fundamental tanto flexural (símbolos huecos) como torsional (símbolos sólidos) en función del número de células bacterianas adsorbidas cuando la deposición se localiza en el extremo fijo (triángulos) o en el extremo libre (círculos) de la palanca.

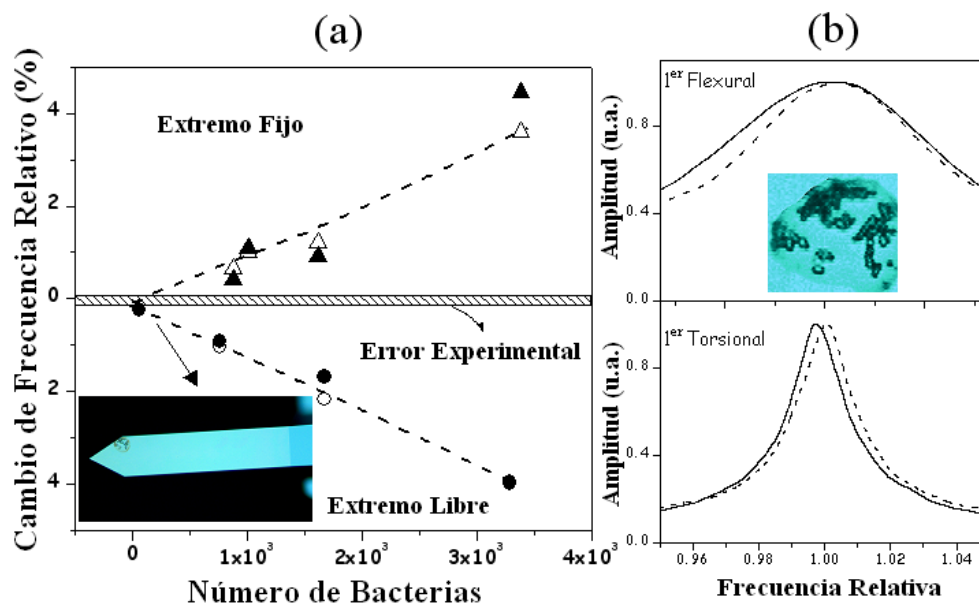


Figura 5.32. a. Medida experimental del cambio de frecuencia de resonancia para el primer modo flexural (símbolos huecos) y el primer modo torsional (símbolos negros) variando el número de bacterias para deposiciones en el extremo fijo (triángulos) y en el extremo libre (círculos). b. Medida experimental del espectro de ruido térmico antes (línea discontinua) y después (línea continua) de la deposición de las bacterias que aparece en el detalle de ambas fotografías.

El error experimental en esta figura se determina calculando el valor medio del cambio de frecuencia de resonancia como consecuencia de la deposición de gotas del mismo tamaño que las empleadas en los experimentos con bacterias pero de agua desionizada. Este error experimental es del orden de 0.1% y se puede atribuir a contaminantes presentes en el agua ultrapura, en los microdispensadores de gotas, así como a la propia estabilidad inherente de la frecuencia de resonancia del sistema. A partir de esta figura podemos concluir lo siguiente:

- El cambio de frecuencia relativo del primer modo flexural es similar al del primer modo torsional.
- Independientemente del número de bacterias, el cambio relativo de frecuencia de resonancia es positivo para ambos modos de vibración cuando las gotas se depositan en el extremo fijo, siendo negativo cuando se depositan cerca del extremo fijo.
- La sensibilidad del cambio de frecuencia de resonancia al número de bacterias es similar para la adsorción en el extremo fijo y el extremo libre, pero con signos opuestos.

Aunque el cambio relativo de frecuencia de resonancia es similar para los modos flexurales y torsionales, la relación señal-ruido se aumenta mucho con el uso del modo torsional debido al alto valor del factor de calidad, Q , del pico que aparece en la figura 5.32.b. En este caso, cuando se depositan unas 50 bacterias en el extremo libre de la palanca (véase la inserción en las figuras 5.32.a y 5.32.b) el desplazamiento del pico es claramente observable en el caso del modo torsional pero apenas perceptible para el modo flexural.

En general, se puede concluir que para procesos dominados por el ruido termomecánico, el uso de modos de vibración con frecuencias altas y factores de calidad altos es ventajoso. En nuestro sistema, el ruido proveniente de la lectura óptica de la vibración nos limita en la práctica a utilizar únicamente el segundo y el tercer modo de vibración flexural y el segundo torsional.

La optimización de la sensibilidad de los resonadores nanomecánicos utilizados como sensores de adsorción biológica requiere por un lado minimizar el ruido en frecuencia y, por otro, maximizar el efecto de la masa o de la rigidez de la capa adsorbida minimizando el efecto del otro mecanismo. Tal y como hemos venido observando en las últimas secciones este último requerimiento se puede lograr limitando la adsorción a regiones funcionalizadas de la palanca cuya posición y tamaño dependan del modo de vibración utilizado. La elección de la masa o de la rigidez de la muestra como parámetro medible del sensor depende de la densidad relativa, el espesor y el módulo de Young del material adsorbido con respecto al de la palanca.

5.13.1. Ruido en Frecuencia

Asumamos que el ruido del sistema está limitado por el ruido termomecánico y que la única fuente de excitación es la fuerza térmica, de naturaleza aleatoria, originada a partir de las moléculas que rodean la palanca y colisionan con ellas [44,45]. Tal y como vimos en la sección 3 del Capítulo 1, en esta situación la densidad espectral del movimiento Browniano de la palanca viene dado por

$$S_{th}(\omega) = |X(\omega)|^2 \xi_{th} \quad (5.23)$$

donde $X(\omega)$ es la susceptibilidad mecánica del resonador y ξ_{th} es la densidad espectral de la fuerza de Langevin. Esta densidad espectral se puede escribir como

$$\xi_{th} = 4\gamma k_B T \quad (5.24)$$

donde k_B es la constante de Boltzmann, T es la temperatura absoluta y γ la constante de rozamiento. Mientras que la susceptibilidad mecánica se puede escribir como

$$X_{eff}(\omega) = \sum_n \left[m_n (\omega_n^2 - \omega^2) + i\gamma_n \omega \right]^{-1} \quad (5.25)$$

donde m_n es la masa efectiva dependiente del modo n . El factor de calidad del modo n flexural de vibración recordemos que viene dado por

$$Q_n = \frac{m_n \omega_n}{\gamma_n}$$

Consideremos un intervalo de tiempo suficientemente largo τ , en el cual la señal de salida, $p(t)$ está filtrada con un filtro paso – banda alrededor de la frecuencia de resonancia ω_n . La señal de salida se puede describir como una onda sinusoidal de frecuencia ω_n con una modulación aleatoria de la fase $\varphi(t)$ y de la amplitud $r(t)$, es decir,

$$p(t) = r(t) \cos[\omega_n t + \varphi(t)]$$

Aplicando una transformación en función de series de Fourier podemos escribir la amplitud y la fase como $r^2(t) = x^2(t) + y^2(t)$ y $\tan \varphi(t) = y(t)/x(t)$, donde

$$x(t) = \sum_k \sqrt{\left| H\left(k \frac{2\pi}{\tau}\right) \right|^2 S_{th}\left(k \frac{2\pi}{\tau}\right) \frac{2}{\tau}} \cos\left[\left(k \frac{2\pi}{\tau} - \omega_n\right)t + \alpha_k\right] \quad (5.26)$$

$$y(t) = \sum_k \sqrt{\left| H\left(k \frac{2\pi}{\tau}\right) \right|^2 S_{th}\left(k \frac{2\pi}{\tau}\right) \frac{2}{\tau}} \sin\left[\left(k \frac{2\pi}{\tau} - \omega_n\right)t + \alpha_k\right] \quad (5.27)$$

donde $H(\omega)$ es la función de transferencia del filtro paso – banda, que es igual a 1 si se cumple que $\omega_n - B < \omega < \omega_n + B$, y cero para cualquier otro caso, y α_k son los ángulos

aleatorios de fase uniformemente distribuidos que hacen que $p(t)$ siga una distribución gaussiana. Las fluctuaciones de fase se pueden ver como fluctuaciones de la frecuencia aplicando la relación

$$\delta\omega(t) \equiv \omega(t) - \omega_n = \frac{d\varphi}{dt}$$

donde $\omega(t)$ es la frecuencia instantánea. Para intervalos de tiempo lo suficientemente largos, esto es $2\pi/\tau \ll \omega_0$, el promedio de la fluctuación cuadrática de frecuencia viene dado por

$$\langle \delta\omega_n(t)^2 \rangle = \frac{\pi}{\omega_0 \tau} \frac{\int_{\omega_n-B}^{\omega_0+B} S_{th}(\omega)(\omega - \omega_n)^2 d\omega}{\int_{\omega_n-B}^{\omega_n+B} S_{th}(\omega) d\omega} \quad (5.28)$$

Para el caso práctico en el que $\omega_n/Q_n \ll 2\pi/\tau \ll \omega_n$ la expresión del ruido en frecuencia se reduce a

$$\langle \delta\omega_n(t)^2 \rangle \equiv \frac{B}{\tau Q_n}, \quad \omega_n/Q_n \ll 2\pi/\tau \ll \omega_n \quad (5.29)$$

En este caso podemos asegurar que el ruido depende principalmente del factor de calidad. De este modo el ruido puede ser reducido significativamente utilizando modos de vibración más altos, que presentan un factor de calidad intrínseco más alto. Esto se puede apreciar en la figura anterior, fig. 5.31.b, donde el cambio de frecuencia debido a la adsorción de bacterias apenas es perceptible en el caso del primer modo flexural, mientras que se observa perfectamente en el modo torsional.

5.13.2. Límite de Detección

Introduciendo las expresiones que hemos obtenido para el cambio de frecuencia de resonancia para los modos flexurales y torsionales, ecuaciones 5.12 y 5.22, en la ecuación 5.28, podemos calcular la relación señal – ruido del cambio de frecuencia de resonancia absoluto inducido por la capa biológica utilizada para modelar las células bacteriales en función tanto del tamaño lateral de la gota como de la posición del centro de la misma, figura 5.33.

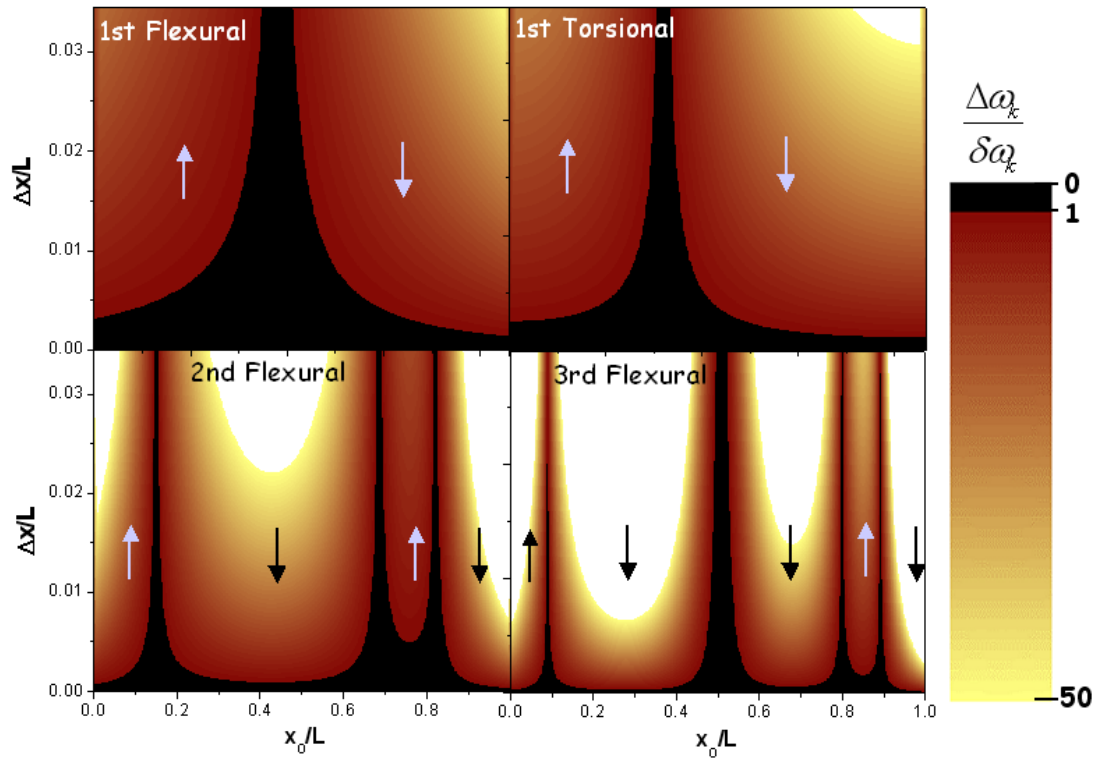


Figura 5.33. Cálculo teórico de la relación señal ruido del cambio de frecuencia relativa de la palanca variando tanto la posición a lo largo de la misma, como la anchura de la gota simulada para los tres primeros modos flexurales y el primer modo torsional.

Con el fin de hacer más general los resultados que se muestran en esta figura, tanto la posición del centro de la gota como su tamaño lateral han sido normalizados a la longitud de la palanca ($433.33\mu\text{m}$). De este modo, podemos aplicar directamente las conclusiones que extraigamos de esta gráfica tanto a palancas como a adsorbatos más pequeños. En esta simulación teórica, el tiempo de adquisición se ha fijado a 2.5s y el ancho de banda con respecto a la frecuencia central (B/ω_n) es de un 10% tal y como se fijó en la medida experimental. La gráfica resultante es una superficie en tres dimensiones que nos permite evaluar las zonas de la palanca que son más sensibles dependiendo del tamaño del adsorbato que estemos utilizando. En dicha gráfica las regiones en color negro son aquellas en las cuales la relación señal-ruido tiene un valor por debajo de uno, y, por tanto, se corresponden con zonas de la palanca en las cuales las bacterias no pueden ser detectadas. Por definición, en la relación señal – ruido indicamos el valor absoluto del incremento de frecuencia de resonancia de la palanca, por lo que hemos introducido unas flechas que muestran el signo del cambio de frecuencia en cada caso, siendo la flecha apuntando hacia arriba la correspondiente al cambio de frecuencia positivo y la flecha apuntando hacia abajo el indicador del cambio de frecuencia negativo.

Tal y como se desprende de la figura 5.33, el primer modo flexural y el primer modo torsional no son sensibles a la deposición de bacterias cerca del centro de la palanca. En nuestro caso concreto en 180 y $160\mu\text{m}$ respectivamente. En ambos modos, la región más sensible se encuentra localizada cerca del extremo libre de la palanca, región en la cual el mecanismo que induce el cambio en la frecuencia de resonancia es

el aumento de la masa inercial de la palanca. El modo torsional presenta una mejor relación señal – ruido debido a que tiene un factor de calidad y una frecuencia de resonancia más altos que el modo flexural.

Tanto el segundo como el tercer modo flexural presentan una mejor relación señal – ruido, sin embargo, el número de regiones ciegas a la presencia de bacterias se incrementa a tres y cuatro respectivamente. Pese a que el número de regiones ciegas para el sensor se ha incrementado, son más estrechas que en el caso del primer modo. Cabe destacar también utilizando modos superiores de vibración, en este caso el segundo y el tercero, que el signo del cambio de frecuencia medido es negativo en toda la palanca excepto en la región más cercana al extremo fijo, donde se hace positiva. Al igual que sucedía en el caso del primer modo, la zona más sensible, donde se satura antes la relación señal-ruido es la más próxima al extremo libre, donde de nuevo vuelve a dominar el mecanismo de adsorción de masa como primer elemento inductor del cambio de frecuencia de resonancia. No obstante, la región cercana al extremo fijo de la palanca también es muy sensible y se puede utilizar para la detección de bacterias basándonos en el incremento local de rigidez.

Un resumen de estos resultados se puede ver en la tabla 5.1, en la que se muestra el mínimo número de bacterias, calculado de forma teórica, que se pueden detectar cuando las bacterias se depositan en el extremo libre o el fijo de la palanca.

	1 ^{er} Flexural	1 ^{er} Torsional	2 ^o Flexural	3 ^{er} Flexural
Extremo Fijo	81	75	15	6
Extremo Libre	36	33	7	2

Tabla 5.1. Mínimo número de bacterias detectadas de forma teórica para los tres primeros modos flexurales de vibración y el primer modo torsional.

El número mínimo de bacterias que pueden ser detectadas ha sido calculado teniendo en cuenta que las células pueden estar orientadas de manera aleatoria en el plano de la palanca. Los resultados teóricos recogidos en la tabla 5.1 muestran que el tercer modo es el más sensible y que podría ser utilizado para detectar entre 2 y 6 bacterias colocadas en el extremo libre y el fijo respectivamente. Este modo es unas 18 veces más sensible que el primer modo flexural. En vista de estos resultados podría pensarse que la sensibilidad del resonador podría aumentar utilizando modos más altos todavía. Sin embargo, cuando el tamaño de los adsorbatos se aproxima a la separación entre nodos y antinodos de vibración el uso de estos modos no es en ningún caso favorable. En estos casos la respuesta opuesta del sensor ante cambios de la masa y de las propiedades mecánicas de los analitos que sobre ella se depositan puede degradar la sensibilidad, siendo preferible el uso del modo fundamental de vibración.

5.14. APLICACIÓN: CÁLCULO DEL MÓDULO DE YOUNG DE UNA BACTERIA *E. COLI*

Tal y como hemos demostrado a lo largo del presente capítulo, las propiedades mecánicas del analito que se deposita sobre la palanca afecta a la frecuencia de resonancia. Utilizando este hecho, y la caracterización del fenómeno que hemos desarrollado anteriormente, podemos extraer el valor del módulo de Young del material depositado sobre la palanca, en este caso bacterias *E. coli*, a partir del desplazamiento en frecuencia.

La determinación de la rigidez de las células *in vivo* se ha revelado en los últimos tiempos como una técnica diagnóstica muy importante. Tal y como se recoge en la literatura [46], el cambio en la rigidez de la célula es una característica propia de las células cancerígenas que afectan a la manera en la que se dispersan. Estos estudios utilizan células tumorales provenientes de metástasis de cáncer de pulmón, páncreas y mama tomadas de fluidos corporales, en concreto el líquido pleural. Se ha demostrado que estas células son un 70% más blandas que células sanas tomadas del mismo tejido. La reproducibilidad y poca dispersión de los resultados indica que este comportamiento es común a todas las células tumorales. A pesar de que distintos tipos de cáncer muestran unos resultados similares en cuanto a la rigidez de las células implicadas, este tipo de estudio se muestra muy útil a la hora de distinguir entre células sanas y tumorales, pudiéndose utilizar como un análisis complementario a los ensayos de inmunohistocompatibilidad que se utilizan hoy en día como método de diagnóstico para el cáncer.

Sin embargo, tal y como se demuestra en numerosos estudios en la literatura [47, 48] el uso del microscopio de fuerzas atómicas puede inducir daños en el tejido celular. Estos daños se pueden dar de dos maneras diferentes, según la técnica utilizada. El primer tipo es el denominado “corte de cuchillo” y se debe al barrido de la punta del microscopio sobre la célula, y suele producirse al intentar obtener una imagen de la célula. El segundo se corresponde con la propia medida de la rigidez, que se lleva a cabo mediante una nanoindentación. Conociendo la fuerza aplicada y la deformación producida podemos extraer la rigidez de la capa.

Este método, a pesar de ser muy preciso y de utilizar una técnica madura y bien establecida como es la microscopía de fuerzas atómicas, puede destruir de manera irreversible la muestra que estamos analizando, lo que en determinadas circunstancias puede no ser aceptable. Por tanto, el método de la medida del cambio de la frecuencia de resonancia de la palanca sobre la que se deposita la muestra siempre es preferible.

Para realizar este cálculo vamos a utilizar un caso en el no conocemos nada de antemano, ni la posición ni la cantidad de bacterias que hemos depositado [49]. Para ello lo que hacemos es depositar una gota de solución acuosa con bacterias sobre una palanca, de la que hemos medido previamente el espectro del movimiento Browniano, por el lado contrario, con lo que no podemos ver la posición de las bacterias adsorbidas, figura 5.34.

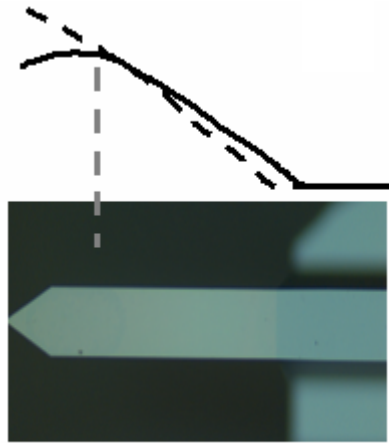


Figura 5.34. Medida experimental del perfil de la palanca antes (línea continua) y después (línea discontinua) de la adsorción de bacterias. La fotografía inferior muestra la micropalanca usada en este estudio

En esta figura podemos ver también el perfil de la palanca que, como se puede apreciar se curva en sentido contrario al resto de las palancas mostradas anteriormente. Esto se debe obviamente a que la tensión ahora se localiza en la otra cara de la palanca.

Con el fin de hacer una exposición más clara del método vamos a deducir el módulo de Young utilizando únicamente el desplazamiento de las frecuencias correspondientes a los modos flexurales de vibración. Nos damos cuenta entonces que, examinando la ecuación 5.12 nos hace falta conocer algunos datos previos del material que pretendemos medir. Este dato es la masa de una bacteria, que tal y como vimos en su momento se corresponde con 665fg. Este es un dato bien establecido en la literatura [6], que se ha medido con métodos independientes al propuesto, por ejemplo utilizando microbalanzas de cuarzo, con lo que no estamos cometiendo ninguna falta de coherencia al aplicar nuestro desarrollo.

El otro dato que desconocemos es el tamaño y posición de las bacterias adsorbidas del material que queremos investigar. Tal y como se puede suponer esta aplicación no es más que un ejemplo ilustrativo, no una aplicación real. De otro modo bastaría con girar el chip y ver con un microscopio la posición de las bacterias. Pero pretendemos ilustrar la aplicación para luego utilizarla en otro tipo de situaciones, donde no tengamos acceso a dicha información. Para ello vamos a valernos del perfil medido en la figura anterior. A partir de este perfil podríamos ser capaces de determinar la posición del centro de la gota, pero resulta ciertamente difícil delimitar con cierto grado de precisión los límites de la misma. Una forma de simplificar el problema es calcular la curvatura de la palanca. Recordemos que la curvatura se calcula como la derivada segunda del perfil de la palanca. De este modo, suponiendo que la palanca adopta un perfil cuadrático, caso más habitual que viene descrito por la ecuación de Stoney, Apéndice D, la curvatura debería ser constante. En la figura 5.35 representamos la curvatura de la palanca mostrada anteriormente.

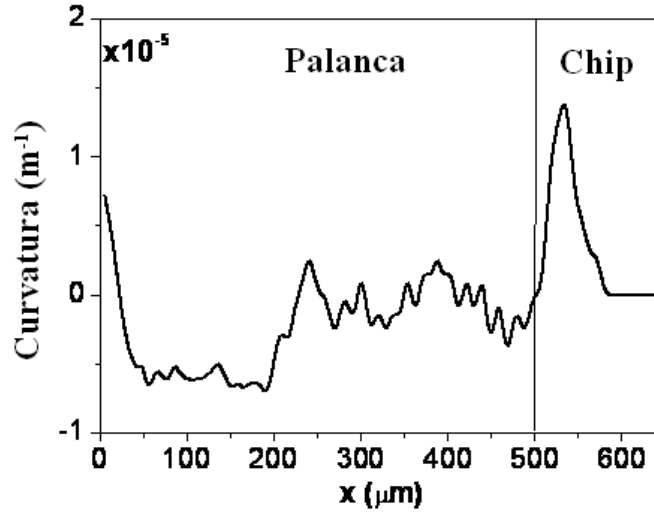


Figura 5.35. Cambio en la curvatura de una palanca sobre la que ha sido depositada una gota con bacterias en su extremo libre.

Tal y como comentamos anteriormente, la curvatura de la palanca permanece constante debido a que sigue un perfil aproximadamente cuadrático. La posición del extremo fijo de la palanca, el origen según el desarrollo anterior, se encuentra en $x = 500\mu\text{m}$, debido a que resulta más fácil tomar el extremo fijo como origen de coordenadas para determinar experimentalmente el perfil al ser un punto fácilmente identificable. La gota queda resaltada como un cambio de la curvatura de la palanca. Nótese que en el interior de la gota la curvatura vuelve a ser constante, aunque con un valor absoluto más alto.

A partir de esta gráfica podemos determinar que la gota tiene aproximadamente $150\mu\text{m}$ de ancho y que su punto central se encuentra a $380\mu\text{m}$ del origen de la palanca, que, para ser consecuentes con la nomenclatura adoptada anteriormente se sitúa en el extremo fijo de la palanca.

Utilizando todos estos elementos ya estamos en condiciones de determinar el valor del módulo de Young. Para ello tenemos que invertir la ecuación 5.12, ya que, como dijimos, únicamente íbamos a utilizar los modos flexurales de vibración. De este modo, el módulo de Young del material adsorbido sobre la palanca se puede aproximar por

$$D \approx \left(\frac{\Delta\omega^F}{\omega^F_0} + 1 \right)^2 \frac{\int_0^L \left(1 + \frac{\rho_b}{\rho_c} \frac{T_b(x)}{T_c} \right) \psi_n^0(x) dx \int_0^L D_0 \left(\frac{\partial^2 \psi_n^0(x)}{\partial x^2} \right)^2 dx}{\int_0^L \psi_n^0(x) dx \int_a^b \left(\frac{\partial^2 \psi_n^0(x)}{\partial x^2} \right)^2 dx} \quad (5.30)$$

donde D_0 es la rigidez flexural de la palanca antes de la deposición de bacterias, $\Delta\omega^F/\omega^F_0$, es el cambio de frecuencia relativo y a y b son los límites entre los cuales está distribuida la masa depositada sobre la palanca expresados como coordenadas espaciales.

A continuación vamos a medir el espectro del ruido térmico de esta palanca antes y después de la deposición de las bacterias, fig. 5.36. Los picos de resonancia se corresponden con los tres primeros modos flexurales de vibración, y son el resultado de promediar 50 medidas.

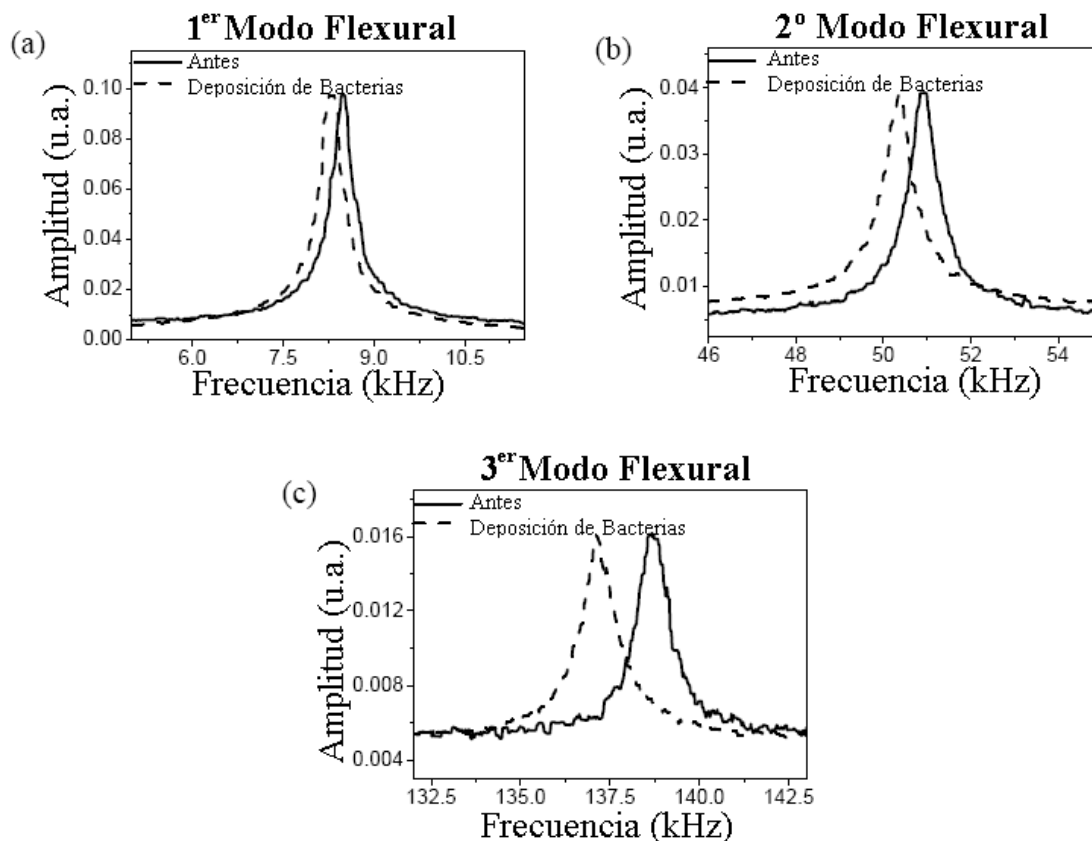


Figura 5.36. Medida experimental del espectro de vibración antes (línea con tinua) y después (línea discontinua) de la deposición de bacterias por la parte posterior de una palanca para el primer (a), segundo (b) y tercer (c) modos flexurales.

El modo fundamental de vibración de la palanca antes de la adsorción de las bacterias está situado en una frecuencia de 8.5kHz. En este primer modo se observa un desplazamiento de la resonancia de -2.18%, mientras que para el segundo y el tercer modo los cambios relativos son, respectivamente -1.13% y -1.09%. Debemos tener en cuenta que el procedimiento utilizado para determinar la frecuencia de resonancia tiene una incertidumbre experimental del 0.01%. Tal y como se puede apreciar en la figura, el cambio en el factor de calidad es despreciable, lo que nos indica que la constante de rozamiento con el aire apenas se ve afectada por las bacterias.

Si utilizamos la aproximación del oscilador armónico, $\Delta m/m = -2\Delta\omega/\omega$, para calcular la masa que se adhiere a la palanca obtenemos 4.4ng cuando utilizamos el primer modo de vibración, 2.3ng cuando utilizamos el cambio de frecuencia medido para el segundo modo y 2.2ng cuando se utiliza el cambio de frecuencia del tercer modo de resonancia. En este caso, en vista de los resultados anteriores podemos suponer que esta aproximación sobreestima la masa adsorbida porque no tiene en cuenta el efecto de corrección que introduce la rigidez. Para comprobar esto podemos hacer el cálculo de la

masa adsorbida utilizando la ecuación 5.12 y suponiendo un módulo de Young de 1GPa, en este caso tendríamos que el cambio de frecuencia de resonancia medido para el primer modo da un valor de la masa adsorbida de $1.6 \pm 0.5 \text{ ng}$, para el cambio de frecuencia del segundo modo es $1.1 \pm 0.5 \text{ ng}$ y $8.8 \pm 21 \text{ ng}$ cuando se emplea el cambio de frecuencia del tercer modo.

En todas las medidas que hemos realizado se observa siempre que el tercer modo de resonancia produce un valor con una dispersión mucho mayor que el resto. Esto se debe a que las bacterias están depositadas sobre uno de los nodos de oscilación, donde el error en la determinación de la masa es máximo. La mayor fuente del error experimental en estas medidas es la determinación del tamaño de la gota. Los errores anteriores tienen en cuenta una indeterminación del 20% en este parámetro y un 50% en el módulo de Young de la bacteria.

Para el cálculo del módulo de Young debemos fijar el valor de la masa de las bacterias, tal y como explicamos anteriormente. Utilizando los valores medidos del tamaño y posición de la gota, y de los diferentes cambios relativos de frecuencia de resonancia obtenemos un valor para el módulo de Young de $0.4 \pm 0.6 \text{ GPa}$, utilizando la expresión 5.30. Este valor está dentro del orden de magnitud de los reportados en la literatura. Tal y como se explicó en su momento, el valor de 1GPa se corresponde al promedio de valores de la elasticidad de la palanca medidos mediante indentación con el microscopio de fuerzas de bacterias secas, por lo que el grado de hidratación puede ser otra fuente de error.

Este valor no se corresponde exactamente con el utilizado en los cálculos teóricos para simular la capa biológica. En la figura 5.37 se muestra el cambio de frecuencia de resonancia en función del espesor de la capa adsorbida para diferentes valores del módulo de Young de dicha capa. Con el fin de simplificar la interpretación de los resultados, la capa se supone homogénea a lo largo de toda la palanca.

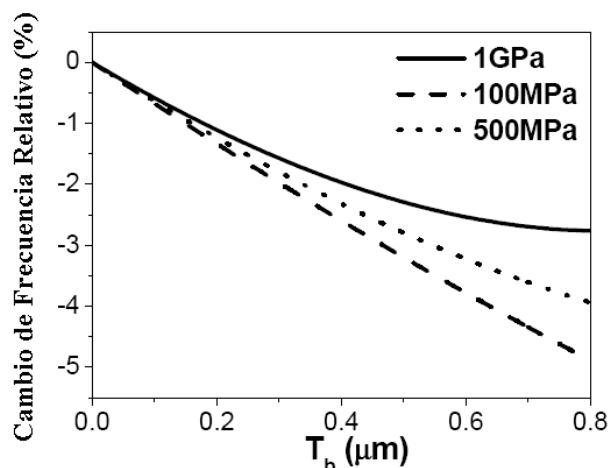


Figura 5.37. Cálculo teórico de la variación de frecuencia de resonancia inducida por el cambio en el espesor de tres capas con distinto módulo de Young.

Como se puede observar en la figura, las diferencias en el cambio de frecuencia de resonancia relativo es de apenas un 2.5% para los espesores utilizados en las

simulaciones, que es del orden de magnitud de las discrepancias observadas entre los cálculos anteriores, con lo que podemos concluir que ambos valores son compatibles dentro del margen de error experimental.

5.15. RESPUESTA DEL SENSOR: INTERACCIÓN PALANCA-MUESTRA

Tal y como hemos venido comentando a lo largo de toda la exposición los sensores basados en micropalancas se han propuesto para la detección de diferentes tipos de sustancias debido a su alta sensibilidad. En el modo dinámico de operación, la sensibilidad es inversamente proporcional a la masa activa del resonador. Esto ha originado que, gracias a los avances que se han llevado a cabo en el campo de la micro- y la nanofabricación, se haya dedicado un gran esfuerzo en reducir el tamaño de los dispositivos para romper los límites establecidos. De este modo, la sensibilidad de los resonadores a aumentado desde $\sim 1\text{pg}$ hasta $\sim 1\text{zg}$ [50] simplemente reduciendo el tamaño de los resonadores desde $\sim 100\mu\text{m}$ de largo hasta $\sim 1\mu\text{m}$, escalando el resto de dimensiones (anchura y espesor). Consecuentemente la frecuencia de resonancia de los dispositivos también ha aumentado desde $\sim 1\text{kHz}$ hasta $\sim 1\text{MHz}$. Cabe suponer por tanto un aumento de la sensibilidad sin precedentes hasta la fecha cuando el tamaño de los dispositivos se encuentre en el rango de los nanómetros.

Sin embargo, la reducción del tamaño de los dispositivos acarrea otro tipo de problemas como, por ejemplo, que dificulta la medida y la manipulación de los mismos. Por debajo de un tamaño crítico no se puede utilizar la lectura óptica de las palancas porque no somos capaces de enfocar suficientemente un láser sobre la superficie de la palanca para obtener un reflejo. Este tamaño depende de factores como la longitud de onda del láser y su ángulo de dispersión y suele estar comprendido entre $1\mu\text{m}$ y $10\mu\text{m}$ para las longitudes de onda utilizadas normalmente. Por tanto, tendremos que recurrir a otro tipo de técnicas de lectura, con lo que ello implica en cuanto a la pérdida de sensibilidad y el aumento del ruido. Además, dispositivos tan pequeños colapsarían en medios líquidos, por lo que no se pueden utilizar para hacer la detección *in situ* de moléculas biológicas.

Una alternativa para aumentar la sensibilidad intrínseca del sensor es cambiar el propio dispositivo. Tal y como hemos visto a lo largo de este capítulo, la respuesta en frecuencia de la palanca depende tanto de las propiedades mecánicas de la palanca, como de las propiedades de la muestra que depositamos sobre la misma. De hecho, en la ecuación 5.6, que describe el cambio de la rigidez flexural por el hecho de añadir una capa de distinto material encima de la palanca, y la 5.15, que muestra el cambio de la rigidez torsional, vemos que en ambos casos la energía potencial de la palanca es un compendio entre las propiedades mecánicas tanto de la palanca como de la muestra. Por tanto, una manera alternativa de aumentar la respuesta de la palanca será elegir el material de la misma en función de lo que queramos detectar.

Comenzaremos el análisis con el estudio de una adsorción homogénea, centrándonos en el caso de la detección de los modos flexurales de vibración, que son los que más comúnmente se utilizan en el campo de la detección de capas biológicas. Deberíamos analizar, por tanto, el efecto que sobre el cambio de frecuencia tiene el cambio de material de la palanca y de la capa adsorbida, ecuación 5.12. Sin embargo, vamos a ver que podemos hacer una aproximación en serie de potencias de esta

ecuación al segundo orden en la relación de espesores de la capa adsorbida frente a la palanca, comprobando además el grado de exactitud de nuestra aproximación.

$$\frac{\Delta \omega_n^F}{\omega_n^0} \cong \alpha_1 \left(\frac{T_b}{T_c} \right) + \alpha_2 \left(\frac{T_b}{T_c} \right)^2 \quad (5.31)$$

donde ω_n^0 es la frecuencia de la palanca sin nada adsorbido en su superficie y α_1 y α_2 son los coeficientes de la aproximación en serie de potencias que vienen dados por

$$\alpha_1 = \frac{1}{2} \left(3 \frac{E_b}{E_c} - \frac{\rho_b}{\rho_c} \right) \quad (5.32)$$

$$\alpha_2 = \frac{3}{8} \left[\left(\frac{\rho_b}{\rho_c} \right)^2 + 2 \frac{E_b}{E_c} \left(4 - \frac{\rho_b}{\rho_c} \right) - 7 \left(\frac{E_b}{E_c} \right)^2 \right] \quad (5.33)$$

Esta aproximación se justifica porque en la mayor parte de los casos la capa formada por las moléculas adsorbidas es mucho más fina que la palanca. En este caso, el cambio de frecuencia relativo vendría caracterizado por la constante de proporcionalidad α_1 . De hecho, cuanto menor sea el espesor de la capa adsorbida sobre la palanca, mejor será la aproximación. Así pues, en esta situación, el cambio de frecuencia relativo es el resultado de la suma de dos efectos lineales: la rigidez de la capa, primer sumando en la ecuación 5.32; y el efecto de la masa añadida, segundo sumando en 5.32, que desplaza la resonancia de la palanca hacia frecuencias más bajas. Nótese que este término corresponde a la corrección de primer orden de la aproximación del oscilador armónico

$$\frac{\Delta \omega}{\omega} = -\frac{1}{2} \frac{\Delta m}{m}$$

Sin embargo, la tendencia actual es ir reduciendo el tamaño de los resonadores cada vez más, con lo que el espesor de la capa se vuelve comparable al de la palanca. De este modo aparecen efectos no lineales debidos al acoplamiento entre el efecto de la masa y de la rigidez tal y como hemos descrito en el presente capítulo.

En la figura 5.38 se muestra el cambio de frecuencia de resonancia calculado a partir de la ecuación 5.12 para una palanca de silicio sobre la que se depositan dos capas biológicas diferentes. Se ha escogido el silicio porque es el material más utilizado en la fabricación de micropalancas. Como capas biológicas paradigmáticas hemos escogido dos casos diferentes: primero una capa auto-ensamblada (SAM, en sus siglas en inglés) formada por un alcano – tiol $-\text{SH}-(\text{CH}_2)_{11}-\text{CH}_3$ cuya densidad de masa es $\rho_b = 675 \text{ kg m}^{-3}$ y su módulo de Young $E_b = 12.9 \text{ GPa}$; segundo una capa de proteínas formadas por el subfragmento 1 de la miosina cuyas propiedades mecánicas son $\rho_b = 183 \text{ kg m}^{-3}$ y $E_b = 0.7 \text{ GPa}$. Las propiedades mecánicas de estas capas han sido obtenidas a partir de monocapas de unos pocos nanómetros de espesor mediante técnicas basadas en la microscopía de fuerzas [51, 52].

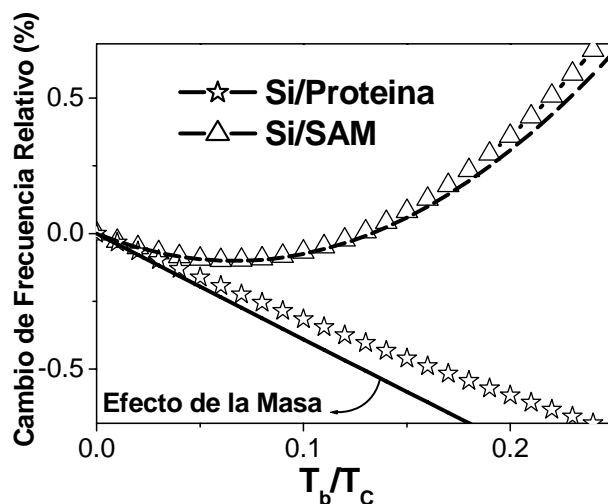


Figura 5.38. Cálculo teórico del cambio de frecuencia de resonancia de una palanca de silicio en función de la relación entre el espesor de la palanca y de una capa de proteínas (estrellas) o una capa auto-ensamblada (triángulos). La línea continua muestra el efecto de la masa, mientras que la línea discontinua muestra una aproximación de segundo orden.

La adsorción de la capa de proteína sobre la superficie de silicio de la palanca produce una reducción de la frecuencia de resonancia que se mantiene aproximadamente lineal con el espesor de la capa, estrellas en la figura 5.37. Tal y como se puede ver en la figura, el cómputo total de la masa adsorbida de proteína sería más pequeño del real si no tenemos en cuenta el efecto de la rigidez de la capa, línea continua en la figura 5.38. En concreto, el cálculo de la masa adsorbida sería un 18% más bajo de la cantidad real.

Para la capa auto-ensamblada altamente compacta (SAM) que hemos simulado teóricamente en la figura 5.38, la contribución de la rigidez resulta más importante y la curva resultante muestra un comportamiento más complejo, triángulos en la figura 5.38. Hasta una relación de espesores (T_b/T_c) menor de 0.04 el cambio de resonancia sigue un comportamiento aproximadamente lineal, indicando que la masa domina para pequeños espesores. En un régimen intermedio entre 0.04 y 0.1, las contribuciones de la rigidez de la capa y de su masa prácticamente se cancelan unas a otras y la medida de las variaciones en la frecuencia de resonancia es prácticamente insensible a la adsorción. Sin embargo, para valores de T_b/T_c mayores de 0.1 la frecuencia de resonancia y la pendiente del cambio crecen conforme aumenta la relación entre los espesores, indicando que, en esta región, domina el efecto del aumento de rigidez debido a la capa adsorbida.

El patrón tan complejo de cambio de frecuencia de resonancia que se observa en esta curva puede ser ajustado de una manera muy precisa utilizando la aproximación de segundo orden que se muestra en las ecuaciones 5.31 – 5.33 (línea discontinua en la figura 5.38).

El otro material escogido para hacer este estudio comparativo es la fotorresina conocida comercialmente como SU – 8. Este material presenta unas propiedades mecánicas que lo hacen susceptible de ser utilizado como material base para la fabricación de micropalancas ya que presenta una densidad de masa comparable a la del

silicio ($\rho_{\text{SU-8}} = 1190 \text{ kg m}^{-3}$), con lo que la sensibilidad al cambio de masa será similar, mientras que su módulo de Young es mucho más bajo ($E_{\text{SU-8}} = 4.0 \text{ GPa}$) [53].

En la figura 5.39 se muestra de nuevo el cálculo teórico del cambio de frecuencia de resonancia conforme aumenta el espesor de una capa homogénea sobre toda la palanca de las mismas capas biológicas que antes, pero esta vez el material utilizado para fabricar la palanca, que tiene las mismas dimensiones que la anterior, es la fotorresina SU-8.

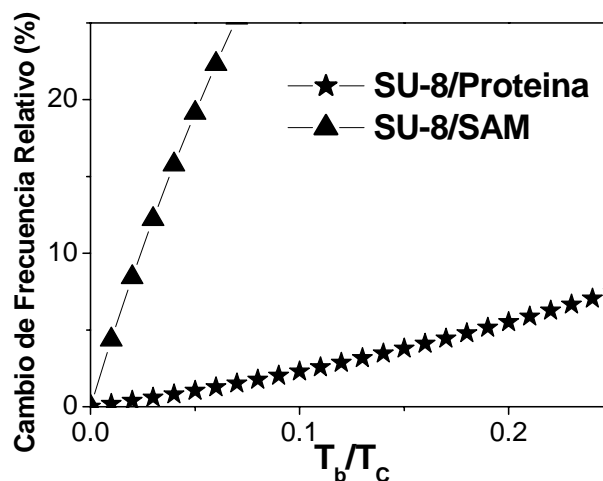


Figura 5.39. Cálculo teórico del cambio de frecuencia de resonancia de una palanca de SU-8 en función de la relación entre el espesor de la palanca y de una capa de proteínas (estrellas) o una capa auto-ensamblada (triángulos).

Tal y como se puede observar en esta figura, cuando las palancas se fabrican en un material mucho más blando, en este caso el SU-8, manteniendo la densidad de masa prácticamente inalterada el efecto de la rigidez de la capa biológica domina en la respuesta de la frecuencia de resonancia de la palanca produciendo unos cambios de frecuencia positivos y muy grandes en comparación con el caso anterior. Nótese que los cambios en la frecuencia de resonancia son hasta dos órdenes de magnitud mayores que en el caso de las micropalancas fabricadas en silicio para el mismo material adsorbido.

Vamos a estudiar a continuación el caso en el que las moléculas biológicas están localizadas en una región cuyo centro está a una distancia x_0 del extremo fijo de la palanca y su anchura viene dada por Δx . La figura 5.40 muestra el cambio de frecuencia relativo del modo fundamental de resonancia de la palanca de silicio en función de la posición de la adsorción. En esta figura nos hemos centrado en el caso de las proteínas descritas anteriormente, aunque podríamos haber hecho un estudio similar con el caso de la monocapa auto-ensamblada. Hemos fijado la relación de espesores a $T_b/T_c = 0.1$, siendo la anchura de la región inmovilizada igual al 10% de la longitud de la palanca, $\Delta x/L = 0.1$.

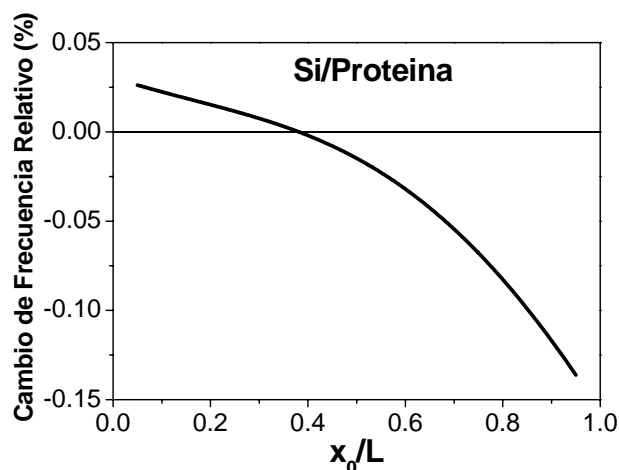


Figura 5.40. Cálculo teórico del cambio de frecuencia de resonancia de una palanca de silicio en función de la posición de una región inmovilizada con proteínas

En este cálculo, figura 5.40, el cambio de la frecuencia de resonancia se ha calculado de nuevo utilizando la ecuación 5.12. En el caso de la palanca hecha de SU-8, tenemos que el cambio es, de nuevo, dos órdenes de magnitud más grande, figura 4.40. En esta figura incluimos además el cambio de frecuencia que se produce en la palanca de silicio para comparar la magnitud de los cambios en cada una de las palancas.

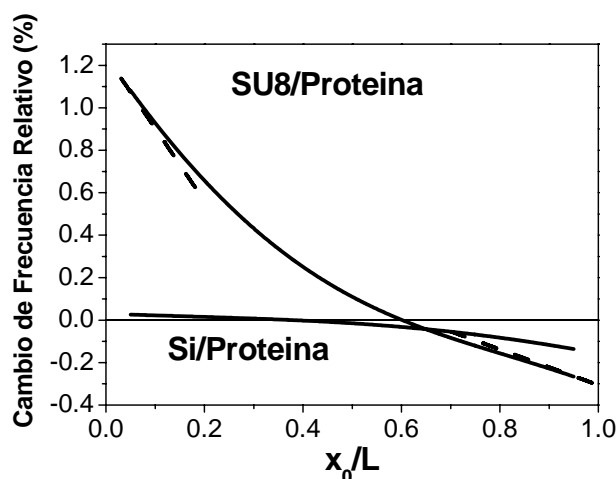


Figura 5.41. Cálculo teórico del cambio de frecuencia de resonancia de una palanca de SU-8 en función de la posición de una región inmovilizada con proteínas. Las líneas discontinuas muestran las aproximaciones en ambos extremos. Se muestra la respuesta de la palanca de silicio para su comparación.

Para ambos tipos de palancas, la que está hecha de silicio y la que está hecha con la fotorresina, el cambio de frecuencia de resonancia es positivo cuando las proteínas se colocan cerca del extremo fijo de la palanca y decrece de forma monótona hasta hacerse negativo en el extremo libre de la palanca. Este comportamiento puede entenderse ahora a través de las constantes de proporcionalidad para el cambio de masa y la rigidez flexural en la ecuación 5.12, la amplitud de oscilación y la curvatura respectivamente. Cuando las proteínas están puestas cerca del extremo fijo, la amplitud de oscilación es aproximadamente cero mientras que la curvatura alcanza su valor máximo. Sin

embargo, cuando las proteínas están puestas en el extremo libre, la curvatura es aproximadamente cero siendo máxima la amplitud de oscilación.

Para ambos casos vamos a proporcionar una expresiones aproximadas muy simples que relacionarán el cambio de frecuencia con el incremento de masa y de rigidez.

$$\frac{\omega^F}{\omega_0^F} \cong \left[1 + f\left(\frac{L-x_0}{x_0}\right) \frac{\rho_b T_b}{\rho_c T_c} \right]^{-1/2}, \text{ para } x_0 \approx L \quad (5.34)$$

$$\frac{\omega^F}{\omega_0^F} \cong \left[1 + f\left(\frac{x_0}{L}\right) \frac{D-D_0}{D} \frac{\Delta x}{L} \right]^{1/2}, \text{ para } x_0 \approx 0 \quad (5.35)$$

donde la función $f(z)$ es una función semiempírica que tiene en cuenta las pequeñas desviaciones de la posición de la adsorción con respecto a los extremos de la palanca y que viene dada por,

$$f(z) = 4.000 - 11.012z \quad (5.36)$$

Tal y como puede verse a partir de la expresión 5.36, esta función es lineal en primera aproximación. Esta función aparece representada en la figura 5.41, líneas discontinuas en ambos extremos, mostrando un muy buen acuerdo con los valores teóricos del cambio de frecuencia de resonancia obtenidos a partir de la ecuación 5.12.

Debido al módulo de Young tan bajo que tiene el SU-8, la adsorción de proteínas produce un cambio de frecuencia positivo desde $x_0 = 0$ hasta $x_0 = 0.60L$, mientras que el cambio de signo en el caso de la palanca hecha de silicio se produce en $x_0 = 0.38L$. Por otro lado, colocando las proteínas en el extremo fijo de la palanca se produce un cambio positivo de frecuencia de resonancia debido al incremento de la rigidez de aproximadamente un 1.1% en el caso del SU-8, mientras que para la palanca de silicio es unas 40 veces menor. De igual manera, cuando las proteínas se encuentran en el extremo libre de la palanca, la masa añadida produce un cambio de frecuencia de resonancia del -0.27% en el caso del SU-8 y del 0.14% para la palanca de silicio. Esto es debido a que las diferencias en la densidad de masa de ambos materiales es mucho menor que la diferencia entre sus respectivos módulos de Young.

Con el fin de comparar el comportamiento de dos resonadores de idénticas dimensiones de silicio y SU-8, necesitamos hacer un análisis del ruido en frecuencia que presentan ambos tipos de resonadores [1]. Si el ruido está dominado por el sensor del desplazamiento y la electrónica empleada para la lectura de la señal, el ruido en frecuencia vendrá dado por el valor absoluto del cambio de frecuencia que puede ser comparado en ambas circunstancias multiplicando el cambio de frecuencia de resonancia relativo por un factor $(E_c/\rho_c)^{1/2}$ que resulta ser unas 5.6 veces mayor en el silicio que en el SU-8.

Si el ruido está dominado por las fluctuaciones termomecánicas intrínsecas de la palanca, el ruido en frecuencia se puede escribir aproximadamente como

$$\delta\omega_0^2 \approx \frac{k_B T B}{m * \omega_0 \langle z^2 \rangle Q}$$

donde k_B es la constante de Boltzmann, T es la temperatura del resonador, $\langle z^2 \rangle$ es la amplitud cuadrática media, B es el ancho de banda de la medida y $m^* = 0.243m_C$ es la masa efectiva del resonador. La figura de mérito para comparar ambos resonadores será la relación entre el cambio de frecuencia de resonancia y el ruido en frecuencia. Introduciendo las propiedades de los materiales, la relación entre los ruidos en frecuencia del resonador de SU-8 y de la palanca de silicio con dimensiones idénticas vendrá dada por

$$\frac{\delta\omega_{0, SU-8}}{\delta\omega_{0, Si}} \cong 3 \left(\frac{Q_{Si}}{Q_{SU-8}} \right)^{1/2}$$

Para cualquier tipo de resonador en gas o en líquido, la energía perdida está dominada principalmente por el rozamiento viscoso, por lo que el factor de calidad se puede escribir como [56]

$$Q \approx \frac{T_c \rho_c}{3} \sqrt{\frac{\omega_0}{2\eta\rho_f}}$$

donde η y ρ_f es la viscosidad y densidad del fluido respectivamente. En este caso tenemos entonces que la relación entre los factores de calidad de ambos tipos de palancas será

$$\frac{Q_{Si}}{Q_{SU-8}} \approx 4.2$$

Indicando que las palancas fabricadas en silicio tienen un factor de calidad intrínseco más alto que las palancas fabricadas en SU-8. Con lo que la relación entre las fluctuaciones de la frecuencia para ambos resonadores será igual a

$$\frac{\delta\omega_{0, SU-8}}{\delta\omega_{0, Si}} \cong 6.2$$

Este resultado muestra que, como las palancas fabricadas en SU-8 tienen un factor de calidad más bajo, las fluctuaciones de la frecuencia de resonancia son más altas. No obstante, como indicamos anteriormente, en el caso de la adsorción de proteínas en el extremo fijo de la palanca el cambio de la frecuencia de resonancia es 40 veces más alto en la palanca de SU-8 que en la de silicio, con lo que tenemos que la figura de mérito que introdujimos para comparar ambos tipos de resonadores queda de la siguiente manera

$$\frac{\Delta\omega_{SU-8}}{\delta\omega_{0, SU-8}} \approx 6.5 \frac{\Delta\omega_{Si}}{\delta\omega_{0, Si}}$$

Tenemos entonces que, para la detección de proteínas una palanca fabricada en fotorresina SU-8 es 6.5 veces más sensible que otra de idénticas dimensiones en la que hemos inmovilizado en el mismo sitio, en este caso cerca del extremo fijo, fabricada en

silicio, incluso teniendo en cuenta el aumento del ruido en frecuencia debido al menor factor de calidad intrínseco de la palanca.

5.16. CONCLUSIONES

Hemos demostrado que la adsorción de bacterias sobre la superficie de un resonador nanomecánico formado por una palanca vibrante puede producir un cambio en la frecuencia de resonancia tanto positivo como negativo. El signo y la magnitud del cambio de frecuencia de resonancia dependen tanto de la posición como de la extensión de las bacterias sobre la superficie, teniendo en cuenta la forma del modo de vibración utilizado en las medidas. Este comportamiento se debe a dos efectos diferentes:

- La rigidez de las bacterias que incrementan la rigidez flexural de la palanca, lo que da lugar a una contribución positiva al cambio de frecuencia de resonancia.
- El efecto de la masa añadida, que da lugar a un desplazamiento de la frecuencia de resonancia hacia frecuencias más bajas.

La respuesta de la palanca está dominada por el efecto de la masa cuando las bacterias se depositan sobre regiones que tienen una amplitud de vibración alta, como los antinodos de los diferentes modos de vibración y el extremo libre de la palanca. El efecto del aumento de la rigidez de la palanca, domina en las regiones que presentan una amplitud de vibración pequeña, pero gran curvatura, como los nodos de vibración y el extremo fijo de la palanca.

La optimización de la sensibilidad de los resonadores nanomecánicos a la adsorción biológica requiere que

- Se minimice el ruido en frecuencia.
- Maximizar tanto el efecto de la masa como de la rigidez minimizando el otro efecto respectivamente.

Basándonos en el análisis del ruido termomecánico, concluimos que, en este caso, el uso de modos altos de vibración cerca con regiones inmovilizadas cerca de los extremos de la palanca es la mejor estrategia para aumentar la sensibilidad. El tamaño de la región óptima de inmovilización disminuye con el índice del modo de oscilación utilizado, imponiendo un límite intrínseco al sensor que dependerá del tamaño de la muestra biológica utilizada.

Además hemos comprobado que la respuesta del sensor depende tanto de la muestra que queremos analizar como del propio material que forma la palanca. En este sentido ha quedado clara la influencia del módulo de Young del material adsorbido. Los cálculos han mostrado que dependiendo del objetivo final del sensor, los materiales poliméricos como el SU – 8 pueden constituir una buena alternativa como materiales

para la fabricación de palancas, dando mejores respuestas que las palancas que utilizan materiales tradicionales como el silicio.

REFERENCIAS

1. K. L. Ekinci, M. L. Roukes “Nanoelectromechanical systems” *Rev. Sci. Instrum.* **76**, 061101 (2005).
2. N. V. Lavrik, M. J. Stepaniak, P. G. Datskos “Cantilever transducers as a platform for chemical and biological sensors” *Rev. Sci. Instrum.* **75**, 2229 (2004).
3. T. P. Burg, S. R. Manalis “Suspended microchannel resonators for biomolecular detection” *Appl. Phys. Lett.* **83**, 2698 (2003).
4. L. B. Sharos, A. Raman, S. Crittenden, R. Reifengerger “Enhanced mass sensing using torsional and lateral resonances in microcantilevers” *Appl. Phys. Lett.* **84**, 4638 (2004).
5. K. Y. Gfeller, N. Nugaeva, M. Hegner “Micromechanical oscillators as rapid biosensor for the detection of active growth of *Escherichia coli*” *Biosens. Bioelectron.* **21**, 528 (2005).
6. B. Illic, D. Czuplewski, H. G. Craighead, P. Neuzil, C. Campagnolo, C. Batt “Mechanical resonant immunospecific biological detector” *Appl. Phys. Lett.* **77**, 450 (2000).
7. A. Gupta, D. Akin R. Bashir “Single virus particle mass detection using microresonators with nanoscale thickness” *Appl. Phys. Lett.* **84**, 1976 (2004).
8. K. L. Ekinci, X. M. H. Huang, M. L. Roukes “Ultrasensitive nanoelectromechanical mass detection” *Appl. Phys. Lett.* **84**, 4469 (2004).
9. B. Illic, Y. Yang, K. Aubin, R. Reichenbach, S. Krylov, H. G. Craighead “Enumeration of DNA Molecules Bound to a Nanomechanical Oscillator” *Nano Lett.* **5**, 925 (2005).
10. N. L. Rosi, C. A. Mirkin “Nanostructures in Biodiagnostics” *Chem. Rev.* **105**, 1547 (2005).
11. E. Stern, J. F. Klemic, D. A. Routenberg, P. N. Wyremback, D. B. Turner-Evans, A. D. Hamilton, D. A. La Van, T. M. Fahmy, M. A. Reed “Label-free immunodetection with CMOS-compatible semiconducting nanowires” *Nature* **445**, 519 (2007).
12. T. A. Taton, C. A. Mirkin, R. L. Letsinger “Scanometric DNA Array Detection with Nanoparticle Probes” *Science* **289**, 1757 (2000).
13. P. N. Sockett, J. A. Roberts “The social and economic impact of salmonellosis. A report of a national survey in England and Wales of laboratory-confirmed *Salmonella* infections” *Epidemiol. Infect.* **107**, 335 (1991).
14. WHO (2004) “Food and health in Europe: a new basis for action” <http://www.euro.who.int/eprise/main/who/InformationSources/Publications/Catalogue/200401308>
15. K. A. Bettelheim “The genus *Escherichia*” In: Balows, A., Trüper, H.G., Dworkin, M., Harder, W., Schleifer, K.H. (Eds.), *The Prokaryotes*, second ed. Springer-Verlag, pp. 2696–2736 (1991).

16. J. F. Vignola, J. A. Judge, J. Jarzynski, M. Zalautdinov, B. A. Houston, J. W. Baldwin "Effect of viscous loss on mechanical resonators designed for mass detection" *Appl. Phys. Lett.* **88**, 041921 (2006).
17. J. Tamayo, A. D. L. Humphries, A. R. Malloy, M. J. Miles "Chemical sensors and biosensors in liquid environment based on microcantilevers with amplified quality factor" *Ultramicroscopy* **86**, 167 (2001).
18. T. P. Burg, M. Godin, S. M. Knudsen, W. Shen, G. Carlson, J. S. Foster, K. Babock, S. R. Manalis "Weighing of biomolecules, single cells and single nanoparticles in fluid" *Nature* **446**, 1066 (2007).
19. D. Ramos, J. Mertens, M. Calleja, J. Tamayo "Photothermal self-excitation of nanomechanical resonators in liquids" *Appl. Phys. Lett.* **92**, 173108 (2008).
20. S. Dohn, R. Sandberg, W. Svendsen, A. Boisen "Enhanced functionality of cantilever based mass sensors using higher modes" *Appl. Phys. Lett.* **86**, 233501 (2005).
21. D. Ramos, J. Tamayo, J. Mertens, M. Calleja, A. Zaballos "Origin of the response of nanomechanical resonators to bacteria adsorption" *J. Appl. Phys.* **100**, 106105 (2006).
22. A. K. Gupta, P. R. Nair, D. Akin, M. R. Ladisch, S. Broyles, M. A. Alam, R. Bashir "Anomalous resonance in a nanomechanical biosensor" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 13362 (2006).
23. T. E. Schäffer "Calculation of the thermal noise in an atomic force microscope with a finite optical spot size" *Nanotechnology* **16**, 664 (2005).
24. J. H. Lee, T. S. Kim, K. H. Yoon "Effect of mass and tension on resonant frequency shift of functionalized $\text{Pb}(\text{Zr}_{0.52}\text{Ti}_{0.48})\text{O}_3$ thin film microcantilever for the detection of C-reactive protein" *Appl. Phys. Lett.* **84**, 3187 (2004).
25. T. Ono, M. Esashi "Tension-induced mass detection with a micromechanical/nanomechanical silicon resonator" **76**, 093107 (2005).
26. G. Y. Chen, T. Thundat, E. A. Wachter, R. J. Warmack "Adsorption-induced surface tension and its effects on resonance frequency of microcantilevers" *J. Appl. Phys.* **77**, 3618 (1995).
27. A. W. Farland, M. A. Poggi, M. J. Doyle, L. A. Bottomley, J. S. Colton "Influence of surface tension on the resonance behavior of microcantilevers" *Appl. Phys. Lett.* **87**, 053505 (2005).
28. J. Mertens, M. Álvarez, J. Tamayo "Real-time profile of microcantilevers for sensing applications" *Appl. Phys. Lett.* **87**, 234102 (2005).
29. M. J. Lachut, J. E. Sader "Effect of surface tension on the stiffness of cantilever plates" *Phys. Rev. Lett.* **99**, 206102 (2007).
30. P. Lu, H. P. Lee, C. Lu, S. J. O'Shea "Surface tension effects on the resonant properties of cantilever sensors" *Phys. Rev. B* **72**, 085405 (2005).
31. J. W. Yi, W. Y. Shih, W. H. Shih "Effect of length, width, and mode on the mass detection sensitivity of piezoelectric unimorph cantilevers" *J. Appl. Phys.* **91**, 1680 (2002).
32. R. Sandberg, W. Svendsen, K. Molhave, A. Boisen "Temperature and pressure dependence of resonance in multi-layer microcantilevers" *J. Micromech. Microeng.* **15**, 1454 (2005).
33. Lord Rayleigh "The Theory of Sound, Volume 1" The Macmillan Company (reprinted 1945 by Dover Publications), New York (1877).
34. Lord Rayleigh "The Theory of Sound, Volume 2". The Macmillan Company (reprinted 1945 by Dover Publications), New York (1878).

35. W. Ritz “Über eine neue Methode zur Lösung gewisser Variationsprobleme der mathematischen Physik” *Journal für Reine und Angewandte Mathematik* **135**, 1 (1908).
36. W. Ritz “Theorie der Transversal-schwingungen einer quadratischen Platte mit freien Rändern” *Annalen der Physik* **28**, 737 (1909).
37. R. Courant “Variational methods for the solution of problems of equilibrium and vibrations” *Bulletin of the American Mathematics Society* **49**, 1 (1943).
38. W. Ritz “Oeuvres Complètes” Gauthier-Villars, Paris (1911).
39. M. Reinstädler, T. Kasai, U. Rabe, B. Bhushan, W. Arnold “Imaging and measurement of elasticity and friction using the TRmode” *J. Phys. D* **38**, R269 (2005).
40. Y. Song, B. Bhushan “Dynamic analysis of torsional resonance mode of atomic force microscopy and its application to in-plane surface property extraction” *Microsyst. Technol.* **12**, 219 (2006).
41. J. P. Den Hartog “Advanced Strength of Materials” McGraw – Hill, New York (1952).
42. L. Prandtl “Zur torsion von prismatischen stäben”, *Phys. Z* **4**, 758 (1903).
43. X. Yao, M. Jericho, D. Pink, T. Beveridge “Thickness and Elasticity of Gram-Negative Murein Sacculi Measured by Atomic Force Microscopy” *J. Bacteriol.* **181**, 6865 (1999).
44. U. Dürig, O. Züger, A. Stalder “Interaction force detection in scanning probe microscopy: Methods and applications” *J. Appl. Phys.* **72**, 1778 (1992).
45. P. R. Saulson “Thermal noise in mechanical experiments” *Phys. Rev. D* **42**, 2437 (1990).
46. S. E. Cross, Y. – S. Jin, J. Rao, J. K. Gimzewski “Nanomechanical analysis of cells from cancer patients” *Nature Nanotechnol.* **2**, 780 (2007).
47. D. P. McDaniel, G. A. Shaw, J. T. Elliott, K. Bhadriraju, C. Meuse, K. – H. Chung, A. L. Plant “The Stiffness of Collagen Fibrils Influences Vascular Smooth Muscle Cell Phenotype” *Biophys. J.* **92**, 1759 (2007).
48. S. Hengsberger, A. Kulik, Ph. Zysset “A combined Atomic Force Microscopy and Nanoindentation Technique to investigate the elastic properties of bone structural units” *Eur. Cell. Matter.* **1**, 12 (2001).
49. D. Ramos, M. Calleja, J. Mertens, A. Zaballos, J. Tamayo “Measurement of the Mass and Rigidity of Adsorbates on a Microcantilever Sensor” *Sensors* **7**, 1834 (2007).
50. Y. T. Yang, C. Callegari, X. L. Feng, K. L. Ekinci, M. L. Roukes “Zeptogram-scale nanomechanical mass sensing” *Nano Lett.* **6**, 583 (2006).
51. A. R. Burns, J. E. Houston, R. W. Carpick, T. A. Michalske “Molecular Level Friction As Revealed with a Novel Scanning Probe” *Langmuir* **15**, 2922 (1999).
52. H Suda, YC Sasaki, N Oishi, N Hiraoka, K Sutoh “Elasticity of Mutant Myosin Subfragment-1 Arranged on a Functional Silver Surface” *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **261**, 276 (1999).
53. M. Calleja, J. Tamayo, M. Nordstrom, A. Boisen “Low-noise polymeric nanomechanical biosensors” *Appl. Phys. Lett.* **88**, 113901 (2006).
54. J. F. Vignola, J. A. Judge, J. Jarzynski, M. Zalalutdinov “Effect of viscous loss on mechanical resonators designed for mass detection” *Appl. Phys. Lett.* **88**, 041921 (2006).

Capítulo 6

Matrices de Resonadores Nanomecánicos para Detección Biológica Selectiva: Detección *ex situ* de Moléculas Biológicas

El presente capítulo está dedicado a la detección *ex situ* de moléculas biológicas. Se utilizan los conceptos desarrollados en el capítulo anterior acerca del efecto de la posición del adsorbato sobre la frecuencia de resonancia para diseñar un sensor dual de moléculas biológicas con dos zonas sensibles a la detección: ambos extremos de la palanca. Este sensor proporciona una doble firma de las moléculas, por un lado su masa, que hace disminuir la frecuencia de resonancia y está localizada en el extremo libre de la palanca; y por otro lado las propiedades elásticas de la capa biológica, cuya zona de máxima sensibilidad está localizada entorno al extremo fijo de la palanca.

Demostramos el principio de actuación del sensor con una molécula orgánica que forma una capa autoensamblada bien documentada en la literatura, el MCH o mercaptohexanol. Una vez se ha comprobado cómo funciona el sensor ante una adsorción molecular, lo probamos ante la detección de ADN. Inmovilizamos una cadena sobre la palanca y vemos la respuesta ante su cadena complementaria y una cadena no complementaria. Vemos que la respuesta de las palancas donde se localiza la adsorción en el extremo fijo es capaz de discriminar ambas respuestas, mostrando así la especificidad del sensor.

6.1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo de sensores biológicos que presenten una alta sensibilidad y selectividad representa un tema de extraordinaria importancia en diversos campos como la biología, sanidad o la industria alimentaria [1-4]. La investigación que se está llevando a cabo en los últimos tiempos proporciona sensores biológicos a escala nanométrica que presentan una extraordinaria sensibilidad a masas adsorbidas en el rango de los attogramos [5]. Tal y como vimos en el capítulo anterior, la frecuencia de resonancia de un resonador depende no sólo de la masa depositada, sino que es significativamente dependiente del cambio en la elasticidad inducido por la adsorción en su superficie de una capa de un material diferente.

La idea principal de un sensor de masa es muy sencilla: cuando se deposita una partícula sobre la superficie de un resonador su frecuencia de resonancia decrece en una cantidad que es proporcional a la masa de la partícula [6]. Como la sensibilidad es inversamente proporcional a la masa activa de la palanca, la posibilidad de fabricar resonadores cada vez más pequeños ha hecho posible la detección de masas cada vez más pequeñas, llegando en algunas aplicaciones hasta el zeptogramo [7-10]. Sin embargo, tal y como se analizó en los capítulos 3 y 4, el intento de alcanzar esta misma sensibilidad en el campo de los biosensores está limitada debido a que las reacciones de reconocimiento molecular se llevan a cabo en medios líquidos, donde el factor de calidad es extremadamente bajo debido al rozamiento viscoso [11, 12].

Existen diferentes aproximaciones al problema de aumentar la sensibilidad de las medidas de reconocimiento molecular. Por un lado se encuentran los esfuerzos centrados en aumentar la resolución en el propio medio fisiológico donde se lleva a cabo la reacción de reconocimiento molecular, capítulos 3 y 4, [13]. Por otro lado la detección *ex situ* midiendo antes y después de la deposición, capítulo 5 [14]. A pesar del aumento de la sensibilidad en la detección *ex situ*, esta técnica presenta el inconveniente de la falta de especificidad por la adsorción física de moléculas o restos de sales disueltas en el medio fisiológico.

En el presente capítulo se propone un nuevo concepto de sensor basado en la fabricación de matrices de palancas en las que se colocan alternativamente pequeñas zonas de oro en ambos extremos, el fijo y el libre (figura 6.1), de acuerdo al estudio previo que se realizó en este sentido en el capítulo 5. La idea subyacente a este diseño es la combinación de diferentes geometrías en una misma matriz de resonadores nanomecánicos con el fin de aumentar la especificidad de la medida.

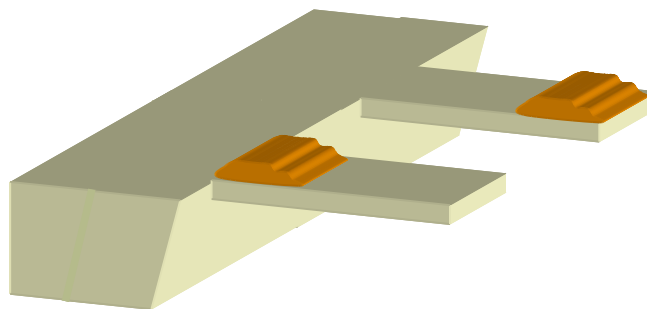


Figura 6.1. Esquema del sensor nanomecánico propuesto para aumentar la sensibilidad y especificidad de la medida obteniendo dos tipos de señales simultáneamente.

6.2. CARACTERIZACIÓN DE LOS DISPOSITIVOS

La respuesta proveniente de este tipo de estructuras nanomecánicas permitirá obtener una visión todavía más profunda acerca de la respuesta de un resonador ante una adsorción biológica. Los dispositivos fueron fabricados por la empresa Nanosens en el marco de un proyecto de colaboración. Las dimensiones de las palancas, fabricadas en nitruro de silicio, son $15\mu\text{m}$ de longitud, $6\mu\text{m}$ de ancho y 100nm de espesor, con una separación entre ellas de $60\mu\text{m}$, figura 6.2.

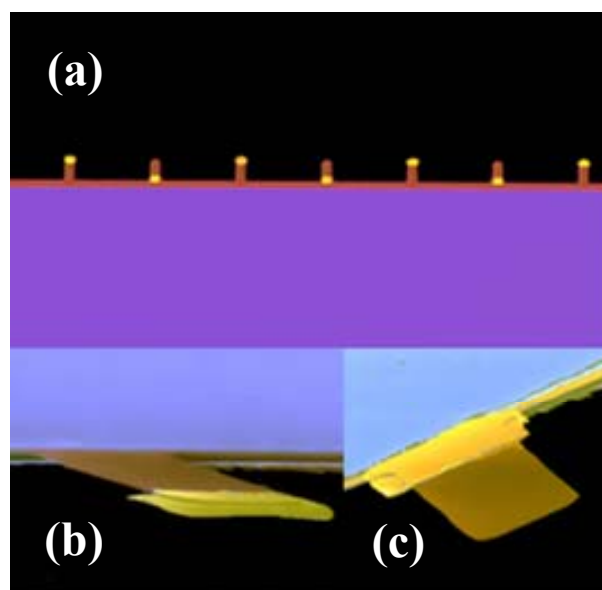


Figura 6.2. (a) Micrografía óptica de la matriz de resonadores nanomecánicos. Las dimensiones de cada palanca son $15\mu\text{m}$ de longitud, $6\mu\text{m}$ de ancho y 100nm de espesor, con una separación entre ellas de $60\mu\text{m}$. La matriz alterna micropalancas con una lámina de oro depositada en el extremo libre y el extremo fijo. Imágenes de microscopía electrónica de barrido en falso color de la micropalanca con una lámina de oro en el extremo libre (b) y en el extremo fijo (c).

Con este tipo de palancas se persigue un doble objetivo, por un lado el aumento de la especificidad que supone la colocación de áreas sensoras en diferentes regiones a lo largo de la micropalanca; y por otro lado el aumento de la sensibilidad que se consigue al disminuir el tamaño del resonador a tamaños comparables a las moléculas que pretendemos detectar. Nótese que del modelo teórico descrito en el capítulo anterior acerca del cambio de las propiedades mecánicas del resonador se desprende que la longitud característica del sistema es el espesor al cubo (momento de inercia). Por tanto, este tipo de resonadores diez veces más delgados que las micropalancas comerciales utilizadas en el capítulo anterior deben presentar una sensibilidad mil veces mayor al cambio de rigidez experimentado por la adsorción biológica. En la figura 6.3 se muestra la comparación entre un chip de micropalancas comercial (a) y el chip diseñado para estos experimentos (b).

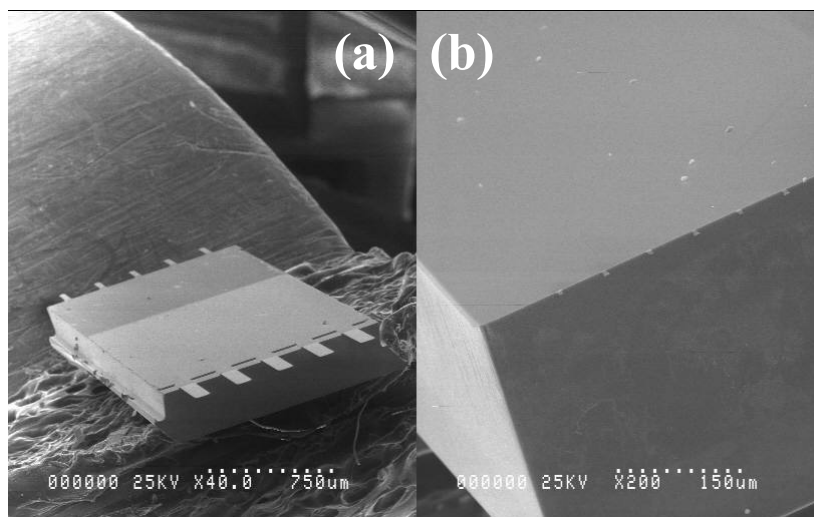


Figura 6.3. Imagen de microscopio electrónico de barrido de un chip de micropalancas comerciales (Mikromasch) (a) y de las palancas propuestas para la detección de moléculas biológicas (b).

6.3. MONTAJE EXPERIMENTAL

En este experimento la frecuencia de resonancia de las palancas se mide en aire a partir de las fluctuaciones del movimiento Browniano utilizando un sistema óptico. Dicho sistema se basa en la técnica de deflexión de haz explicada en el capítulo primero, pero incorpora dos objetivos de microscopio x10 (Mitutoyo) cuya longitud de trabajo es muy grande (13mm), figura 6.4. La colocación de estos objetivos permite enfocar el haz láser hasta lograr un tamaño de spot mucho más pequeño, por lo que podemos ver palancas más pequeñas. La divergencia del haz a la salida hace que sea necesario recoger la luz mediante otro objetivo.

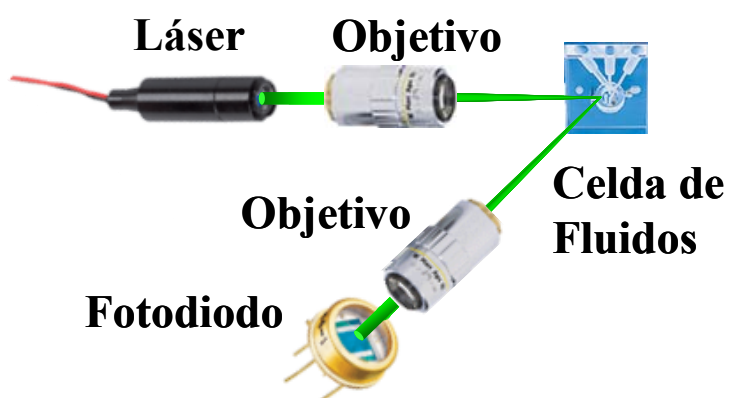


Figura 6.4. Esquema del montaje experimental utilizado para la medida en aire de microplancas en aire cuya longitud es menor de la habitual, 15μm frente a las 200 ó 500μm de las utilizadas en capítulos anteriores.

Las palancas que tienen adherida la lámina de oro en el extremo libre presentan una frecuencia de resonancia de 310kHz (figura 6.5.a), mientras que el modo

fundamental de vibración de las palancas con la lámina de oro en el extremo fijo está situado en 650kHz (figura 6.5.b). El factor de calidad del modo fundamental de resonancia de ambos tipos de palancas es de 25-30 en aire. Una medida del grado de precisión en la fabricación de los elementos de la matriz consiste en medir la desviación estándar entre la frecuencia de resonancia de los diferentes elementos, que es de aproximadamente un 0.8%. El alto número de elementos por cada chip, 25 palancas, unido a la uniformidad en las propiedades mecánicas de todos los resonadores y el alto grado de precisión en la fabricación permite hacer muchos experimentos en paralelo, con lo que es posible extraer información a partir de medidas estadísticas.

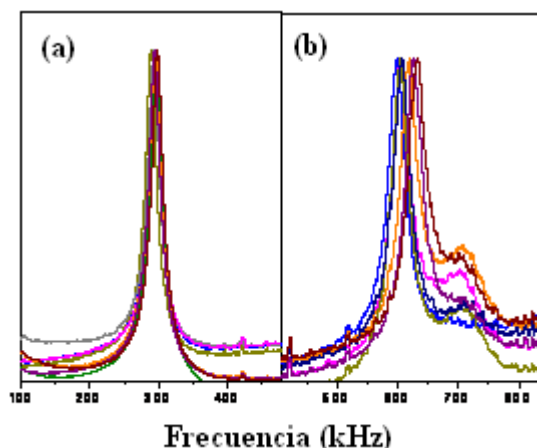


Figura 6.5. Espectro de frecuencias de la oscilación de micropalancas en aire con láminas de oro adheridas al extremo libre (a) o al extremo fijo (b).

6.4. PROCESO DE FABRICACIÓN DE LOS DISPOSITIVOS

Tal y como se ha mencionado anteriormente, la fabricación de los dispositivos fue llevada a cabo por la empresa Nanosens con sede en Holanda. El proceso seguido en sus instalaciones se esquematiza en la figura 6.6

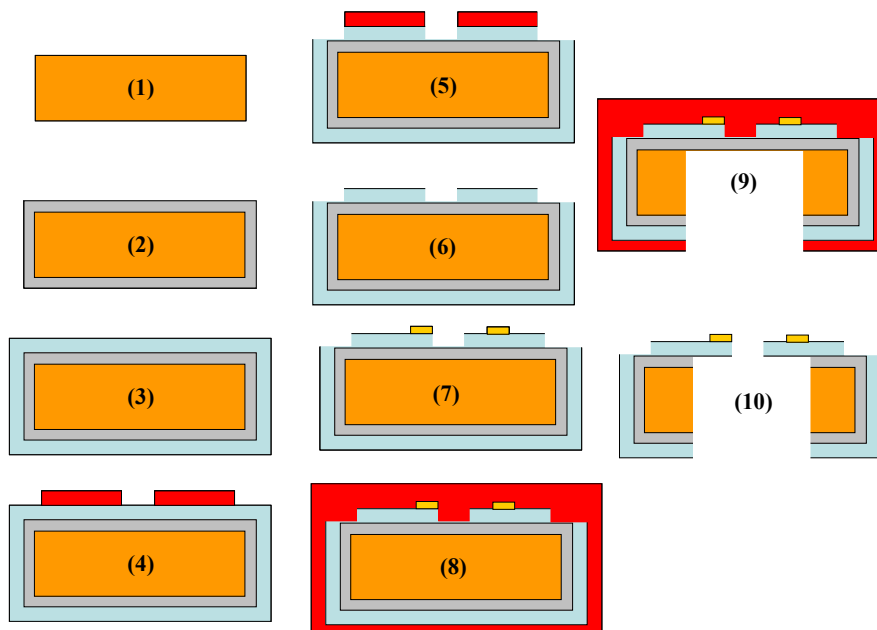


Figura 6.6. Esquema del proceso de fabricación de las palancas por parte de la empresa Nanosens.

Tal y como se observa en la figura 6.6 el proceso de fabricación consta de 10 pasos que pasamos a describir

1. Se parte de una oblea de silicio orientada en la dirección (100) de 380 μ m de espesor.
2. Se recubre la oblea con una capa de óxido de silicio de 300nm.
3. Se deposita una capa de 100nm de espesor de nitruro de silicio mediante deposición en fase vapor o LPCVD (siglas en inglés de “Low Pressure Chemical Vapor Deposition”).
4. Mediante un proceso de microlitografía estándar se define el patrón de las palancas sobre fotorresina.
5. Se elimina el nitruro de silicio que no está protegido por la fotorresina mediante una mezcla de gases CHF₃ y O₂ en una cámara de RIE (en inglés “Reactive Ion Etching”).
6. Se elimina la fotorresina con plasma de oxígeno, lo que deja al descubierto el patrón de las micropalancas sobre el nitruro de silicio.
7. Utilizando una técnica estándar de litografía se deposita una pequeña zona de oro sobre el patrón de la micropalanca. Esta pequeña capa tiene un espesor de 25nm, con 5nm de cromo para aumentar la adhesión.
8. Protegemos la zona litografiada recubriéndolo todo con fotorresina (Shipley).
9. Atacamos verticalmente el sustrato por la parte posterior de la oblea con el fin de liberar las palancas en la cara frontal. El ataque se lleva a cabo en un sistema de ataque seco (Alcatel) utilizando un proceso convencional conocido comercialmente como Bosh. La mezcla de gases utilizada en la cámara es una mezcla de SF₆, CHF₃ y O₂, con una tasa de eliminación del silicio de 10 μ m por minuto. Mediante el control del tiempo y verificación visual periódica el ataque se para cuando se alcanza la capa de óxido de silicio. Se sabe que hemos alcanzado esta capa porque las áreas atacadas se vuelven transparentes a través de la oblea.
10. La capa de fotorresina se elimina mediante plasma de oxígeno, seguido de un ataque a la capa de óxido de silicio en una solución de ácido fluorhídrico, lo que finalmente libera las micropalancas de nitruro de silicio con un patrón de oro alternativamente dispuesto en los extremos final e inicial de las mismas.

6.5. APLICACIÓN: DETECCIÓN DE UNA CAPA AUTO-ENSAMBLADA

Con el fin de caracterizar la respuesta de la matriz fabricada de resonadores nanomecánicos ante la adsorción de una molécula orgánica, expondremos los chips a una concentración 1mM de mercaptohexanol (MCH). Esta molécula está compuesta por un alcano de 0,8nm de longitud terminado en un grupo hidroxilo, figura 6.7.a. Las moléculas de MCH se diluyen en agua pura, donde forman una capa autoensamblada sobre una superficie de oro a través del enlace químico entre el oro y el grupo tiol, figura 6.7.b. Las moléculas que no se han enlazado a la superficie se eliminan mediante diferentes lavados con agua pura.

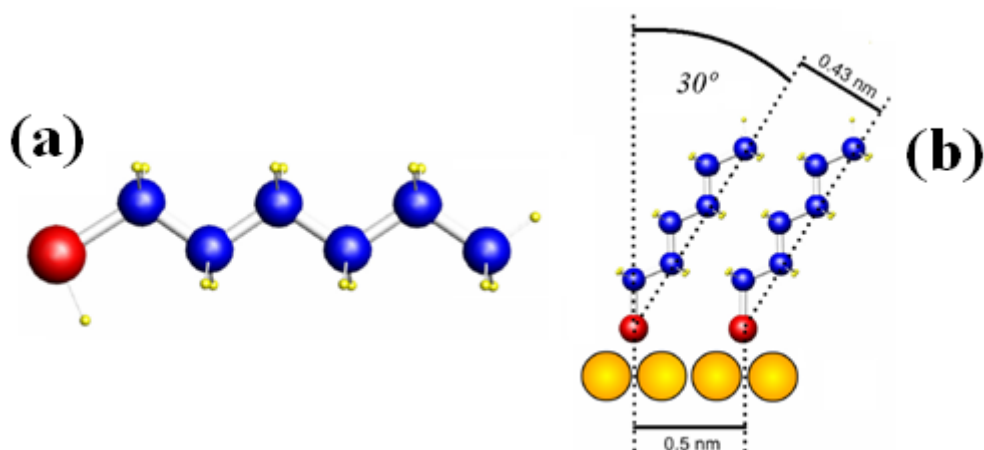


Figura 6.7.a. Representación del mercaptohexanol, las bolas azules representan los carbonos, las amarillas los hidrógenos y la roja el azufre. b. En presencia de una superficie de oro el azufre se enlaza químicamente con el oro formando una capa autoensamblada cuyos parámetros geométricos (separación entre cadenas y orientación) aparecen en la figura.

La figura 6.8 muestra el desplazamiento característico de la resonancia para las palancas con el oro situado en el extremo libre antes y después de la formación de la capa en aire. Tal y como era de esperar la micropalanca presenta un desplazamiento de la resonancia hacia frecuencias más bajas. Las medidas efectuadas antes y después de la adsorción en aire de 20 micropalancas diferentes proporcionan un valor del desplazamiento relativo de la frecuencia de resonancia de $-0,27 \pm 0,07\%$. Del modelo teórico desarrollado en el capítulo anterior se desprende que el cambio en la frecuencia de resonancia para esta configuración proviene de la masa añadida a la superficie. De este cambio se puede deducir que la sensibilidad de nuestro sistema es de aproximadamente 140 ag/Hz. Por tanto, la masa añadida es de 98 fg. Este valor implica que la densidad superficial es de aproximadamente 10^{15} moléculas/cm², un valor próximo al encontrado en la literatura.

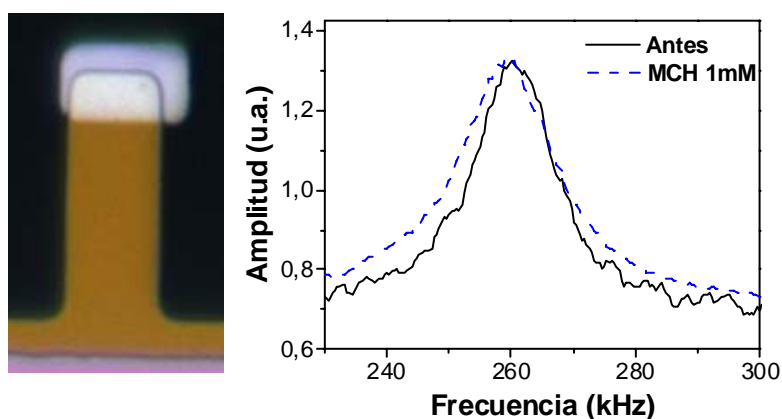


Figura 6.8. Amplitud frente a la frecuencia para una micropalanca en aire antes y después de la adsorción de MCH sobre la capa de oro situada en el extremo libre.

Sin embargo el cambio en la frecuencia de resonancia para las palancas con la región cubierta de oro situada en el extremo fijo es significativamente positivo, figura 6.9. El cambio relativo de frecuencia de resonancia es $+0,90 \pm 0,27\%$. De nuevo, tal y como sucedía en el capítulo anterior con las bacterias, no podemos explicar este cambio de frecuencia recurriendo únicamente al incremento de masa. En el caso de la detección de patógenos explicamos el cambio en la frecuencia de resonancia recurriendo al aumento de la rigidez de la palanca por el hecho de depositar sobre ella una capa de material biológico. En este caso no podemos hablar de un material continuo, como lo eran las bacterias, sino que tenemos que recurrir al concepto de elasticidad bidimensional, sobre el que incidiremos más adelante.

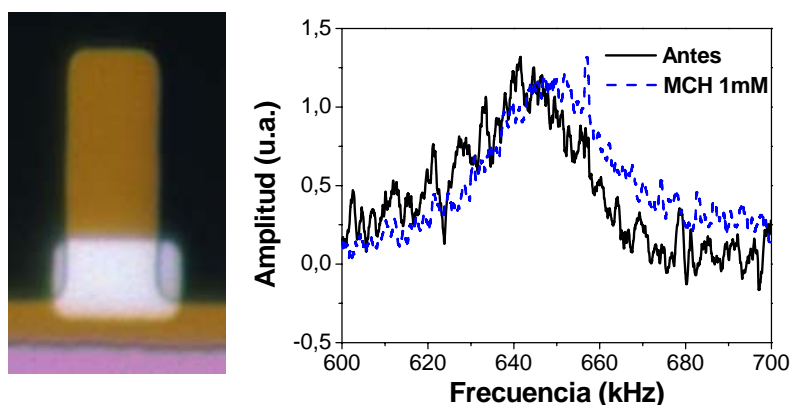


Figura 6.9. Amplitud frente a la frecuencia para una micropalanca en aire antes y después de la adsorción de MCH sobre la capa de oro situada en el extremo fijo.

Los resultados descritos anteriormente sugieren que es posible aplicar este tipo de resonadores nanomecánicos para detección biológica basándonos en la doble firma dejada por las moléculas orgánicas: la masa añadida, detectada por las palancas con el oro situado en el extremo libre de la palanca; y la elasticidad de la capa, que es detectada en el extremo fijo.

6.6. DETECCIÓN DE ADN

Con el fin de demostrar la viabilidad de este tipo de dispositivos como sensores biológicos, vamos a utilizarlos para la detección de la formación de la doble hélice entre cadenas de ADN complementarias sencillas. Para ello, se inmovilizó sobre las micropalancas una cadena sencilla de ADN compuesta por 16 bases modificada de tal forma que presenta un grupo tiol en uno de sus extremos, lo que permite que se enlace fuertemente con el oro. Para asegurar la especificidad de las medidas, las micropalancas con la cadena sencilla se expusieron primero a una secuencia no complementaria de ADN (en lo sucesivo ADN-NC) y, posteriormente, a la cadena sencilla de ADN complementario (ADN-C).

6.6.1. Preparación de las Muestras Biológicas

Las cadenas de ADN sencillas con un grupo tiol (con la modificación en el extremo 5' HS-(CH₂)₆), así como las cadenas complementaria y no complementaria son comerciales (Microsynth, Suiza). Los oligomeros de ADN fueron purificados siguiendo un procedimiento estándar HPLC y liofilizados. Antes de su utilización, las muestras fueron resuspendidas en buffer PBS (137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 8 mM Na₂HPO₄, 2 mM KH₂PO₄; pH=7.5) y divididas en alícuotas del volumen deseado con una concentración de 1 μM.

Las micropalanca fueron funcionalizadas con una cadena sencilla de ADN de 16 bases (5'-CTACCTTTTTTTTCTG-3') que, como hemos dicho, tiene un grupo tiol en el extremo 5', por lo que se une fuertemente al oro. El tiempo de inmovilización fue de unas 20 horas. Después, las micropalanca fueron secuencialmente incubadas con la cadena no complementaria (5'-AGCTTCCGTACTCGAT-3') y la complementaria. Después de cada paso de adsorción se enjuagan las micropalanca sumergiéndolas en PBS y agua Milli-Q (18 MΩ/cm) para eliminar las moléculas que hayan quedado débilmente adsorbidas, y se secan con nitrógeno seco.

6.6.2. Resultados Experimentales

La figura 6.10 muestra el cambio relativo de la frecuencia de resonancia medido después de los sucesivos pasos de incubación con las secuencias de ADN no complementaria y complementaria. Los valores medios y las desviaciones se toman a partir de las medidas en 40 micropalanca de cada tipo, correspondientes a 4 chips diferentes. Para las micropalanca con el oro en el extremo libre el cambio relativo de frecuencia de resonancia debido a la exposición al ADN-NC y al ADN-C es igual a -0,25±0,10% y +0,03±0,12% respectivamente. La respuesta significativamente alta ante la cadena de ADN-NC indica la existencia de un alto grado de adsorción no específica de ADN-NC sobre la palanca. No obstante, es todavía más interesante que el ADN-C apenas proporciona una respuesta apreciable en el cambio de la frecuencia de resonancia, lo que indica que el reconocimiento molecular entre ambas cadenas complementarias no puede ser detectado.

En el caso de las palanca con el oro situado en el extremo fijo, el cambio relativo de frecuencia de resonancia debido a la interacción con el ADN-NC y el ADN-C es igual a -0,59±0,14% y +0,55±0,17% respectivamente. El cambio en la frecuencia de resonancia es significativamente mayor en ambos pasos que los obtenidos en el experimento correspondiente a las micropalanca con el oro situado en el extremo libre. Pero lo que es todavía más relevante es el hecho de que la cadena complementaria se puede distinguir claramente de la no complementaria ya que el cambio de frecuencia en ambos casos presenta signos opuestos.

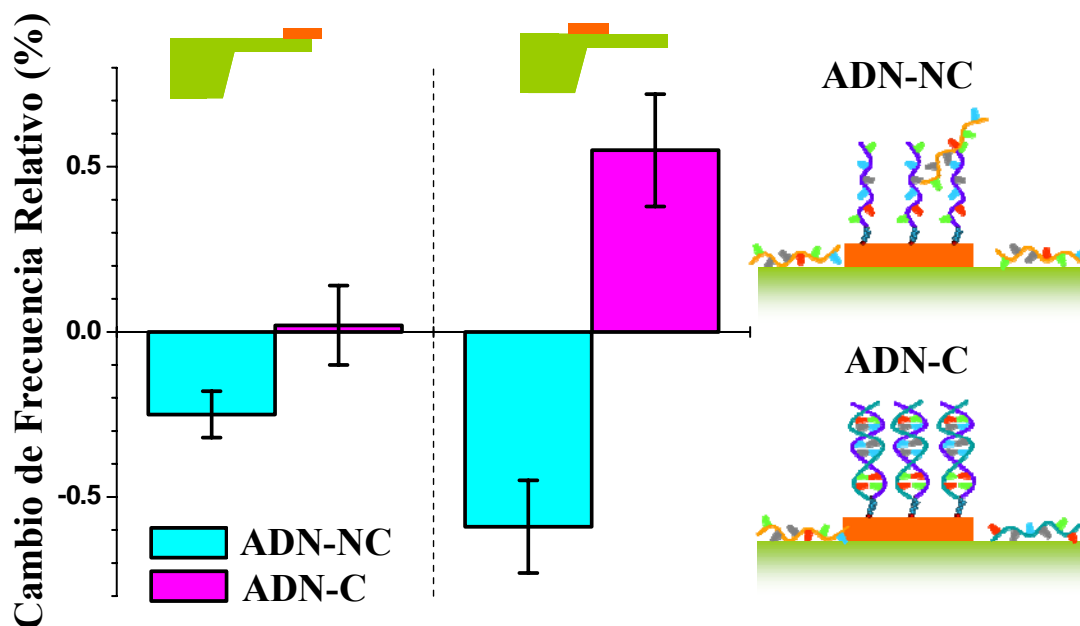


Figura 6.10. Valor medio del cambio en la frecuencia de resonancia de las micropalanclas expuestas a una cadena de ADN no complementaria (barras azules) y una complementaria (barras rojas). Los datos se han separado para las micropalanclas con el oro situado en el extremo libre (izquierda) y en el extremo fijo (derecha). Las medidas provienen de 80 experimentos independientes. A la derecha se muestra una imagen esquemática de la adsorción.

6.6.3. Medidas de Fluorescencia

La correcta interpretación de la respuesta de nuestros dispositivos requiere un estudio previo de la distribución de las moléculas a lo largo de la longitud de la palanca. Con este fin se utilizó un microscopio de fluorescencia confocal para obtener una imagen de la distribución de las moléculas de ADN-NC y ADN-C marcadas con fluoresceína sobre una palanca que previamente ha sido funcionalizada con una hebra sencilla de ADN con un grupo tiol en un extremo.

Los experimentos de fluorescencia se realizaron en un microscopio “Confocal MicroRadiance” (BioRad) acoplado a un microscopio vertical Axioskop 2 (Zeiss). Las palancas funcionalizadas fueron expuestas a las cadenas complementaria y no complementaria marcadas con fluoresceína isothiocyanato en el extremo 5’ (Microsynth, Suiza).

La figura 6.11 muestra un corte transversal de la intensidad de luz proveniente de la señal de la fluorescencia a lo largo del eje longitudinal de la palanca para las moléculas de ADN-NC (triángulos) y ADN-C (círculos). Para las palancas con el oro en el extremo libre, las señales del ADN-NC y el ADN-C son significativamente mayores en el oro que en el nitruro de silicio (figs. 6.11.a y 6.11.b). Además, la señal de fluorescencia en el oro es similar para ambas secuencias. Este resultado es consistente con el cambio de resonancia despreciable que se mide entre la adsorción del ADN-C y el ADN-NC. La principal diferencia entre la fluorescencia de ambas moléculas de ADN es la distribución sobre el oro en el extremo libre. La señal de fluorescencia del ADN-C

está uniformemente distribuida sobre el oro, mientras que la señal correspondiente al ADN-NC aumenta con la distancia hasta alcanzar un máximo cerca del extremo de la palanca.

En consistencia con la especificidad mostrada en la respuesta en frecuencia de resonancia, las palancas con el oro situado en el extremo fijo muestran una gran diferencia en el patrón de la señal de fluorescencia mostrado por el ADN-NC y el ADN-C (figuras 6.11.b y 6.11.d). La señal de fluorescencia del ADN-C es mayor y está localizada en la zona cubierta de oro, lo que indica que se ha formado de forma satisfactoria la doble hélice del ADN. La señal de fluorescencia correspondiente al ADN-NC es significativamente más débil en el oro, alcanzando el máximo valor en el extremo libre de la palanca.

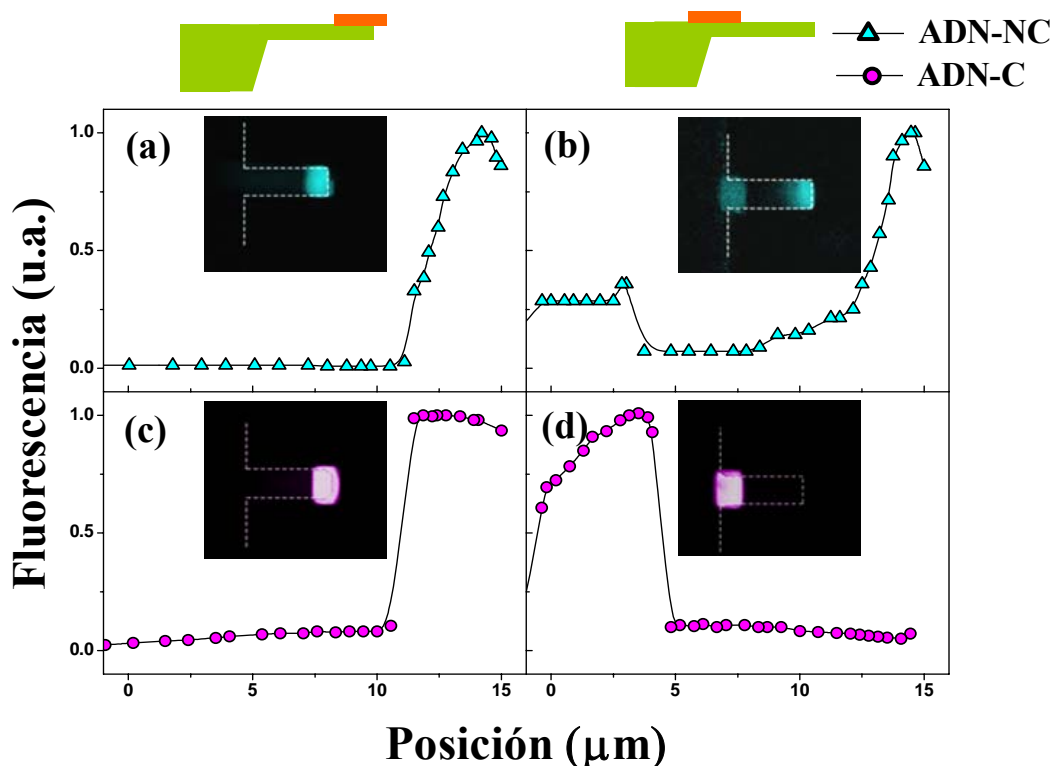


Figura 6.11. Señal de fluorescencia en función de la posición a lo largo de la palanca para resonadores con el oro situado en el extremo libre (a,c) y en el extremo fijo (b,d) expuestos a la cadena de ADN no complementario (a,b) y la cadena complementaria (c,d). Las micropalancas fueron previamente funcionalizadas con una hebra sencilla de ADN modificada con un grupo tiol. La señal de fluorescencia está normalizada a su máximo valor. Las imágenes correspondientes del microscopio de fluorescencia confocal se recogen en las micrografías insertadas en cada gráfica.

A partir de este estudio se puede concluir que, en general, la señal de fluorescencia de las moléculas de ADN-NC se incrementa conforme nos desplazamos hacia el extremo libre de la palanca (figuras 6.11.a y 6.11.b). Este fenómeno ha sido recientemente documentado e interpretado en términos del transporte asistido por difusión [15, 16]. Básicamente consiste en que el chip captura moléculas de ADN de las proximidades de las palancas, reduciendo la cantidad de moléculas que se depositan sobre la palanca. De este modo, las moléculas son recogidas de forma más eficiente por

el extremo libre que en el fijo. Este efecto es el responsable de la degradación de la especificidad en las medidas con palancas que presentan la zona sensible (el oro) cerca del extremo libre para optimizar la sensibilidad de la medida de masa. Por el contrario, el efecto del transporte inducido por difusión se puede utilizar con el fin de incrementar la selectividad confinando la reacción de reconocimiento molecular cerca del extremo fijo de la palanca.

6.6.4. Interpretación de los Resultados

Pasemos a continuación a analizar los mecanismos responsables de los cambios en la frecuencia de resonancia medidos en los experimentos. Recordemos que la ecuación de movimiento que rige las oscilaciones flexurales de la palanca es la ecuación de Euler–Bernoulli, que para una dimensión a lo largo del eje longitudinal, x , se puede aproximar por [17–20]

$$W(\rho_c T_c + \rho_a T_a(x)) \frac{\partial^2 w(x,t)}{\partial t^2} + \frac{\partial^2}{\partial x^2} \left[D^F(x) \frac{\partial^2 w(x,t)}{\partial x^2} \right] = 0 \quad (6.1)$$

donde D^F es la rigidez flexural, ρ la densidad de masa, W y T la anchura y el espesor de la palanca, w el desplazamiento vertical y los subíndices c y a hacen referencia a la palanca y la capa adsorbida respectivamente. Esta ecuación indica que un cambio en la frecuencia de resonancia debido a la adsorción de una capa de biomoléculas sobre la palanca proviene principalmente de los cambios producidos en la rigidez flexural y la masa de la misma. Para calcular el cambio en la frecuencia de resonancia hemos aplicado la aproximación descrita en el capítulo 5 basada en el método de Rayleigh. De este modo llegamos a la expresión deducida en el capítulo anterior [20]

$$\omega_n = \left(\frac{\int_0^L D^F(x) \left(\frac{d^2 \psi_n(x)}{dx^2} \right)^2 dx}{\rho_c W T_c \int_0^L \left(1 + \frac{\rho_a}{\rho_c} \frac{T_a(x)}{T_c} \right) \psi_n^2(x) dx} \right)^{1/2} \quad (6.2)$$

donde la forma del modo, ψ_n , viene dada por la siguiente expresión

$$\psi_n(x) = A_n \left[\sin k_n^F x - \sinh k_n^F x + \frac{(\sin k_n^F L + \sinh k_n^F L)(\cosh k_n^F x - \cos k_n^F x)}{\cos k_n^F L + \cosh k_n^F L} \right] \quad (6.3)$$

siendo A_n la amplitud de cada modo de oscilación, indicado por el subíndice n , y k_n^F el resultado numérico de $1 + \cos(k_n^F L) \cosh(k_n^F L) = 0$, lo que da como resultado $k_n^F = 1.8751, 4.6941, 7.8548, \dots$

La rigidez flexural del conjunto de todas las capas que componen la palanca se calcula teniendo en cuenta el módulo de Young de cada capa y su espesor del siguiente modo

$$D^F = W \sum_n \int_{T_n}^{T_n+T_{n+1}} E_n (z-a)^2 dz \quad (6.4)$$

donde a es la posición del eje neutro que, recordemos que se define como el eje a lo largo del espesor donde se cancela la tensión neta longitudinal, de modo que se calcula resolviendo la siguiente ecuación

$$\sum_n \int_{T_n}^{T_n+T_{n+1}} E_n (z-a) dz = 0 \quad (6.5)$$

Para las palancas con el área de oro en el extremo libre, la contribución de las propiedades mecánicas de la capa de ADN al cambio total de frecuencia de resonancia es, al menos, dos órdenes de magnitud menor que la contribución de la masa. El cambio significativo de la frecuencia de resonancia después de la adsorción del ADN-NC es consistente con la señal de fluorescencia encontrada para esta misma secuencia en el área de oro. Lo que es todavía más importante es que la pequeña diferencia en la señal de fluorescencia entre las cadenas de ADN-NC y ADN-C es consistente con el cambio despreciable de la frecuencia de resonancia producido después del paso de la hibridación. El límite en la detección de masa de estos dispositivos depende del ruido en frecuencia [19]. Para un ancho de banda de 0,1Hz, el ruido termomecánico del modo fundamental de oscilación es de aproximadamente 5Hz, lo que implica que el límite fundamental de detección de masa es de aproximadamente 0,4fg. Sin embargo, el ruido eléctrico en nuestras medidas fija el ruido en frecuencia en, aproximadamente 100-200Hz, lo que corresponde con un límite en la detección de masa de 20-30fg.

Se ha investigado si la sensibilidad del dispositivo para la medida de la masa añadida se puede mejorar haciendo el experimento en vacío, donde el factor de calidad alcanza valores de 2000-3000 y el ruido experimental de la frecuencia es de unos pocos Hz. El valor medio del cambio en la frecuencia de resonancia medido en vacío es prácticamente idéntico al obtenido en las medidas en aire. Sin embargo, los cambios en la frecuencia de resonancia obtenidos después de la hibridación de ADN muestran una desviación significativa de aproximadamente 100Hz entre las diferentes palancas, lo que implica que el límite de detección de masa es de aproximadamente 10fg. Por tanto, la fuente de ruido que limita la detección de masa proviene de la adsorción no específica que se produce de forma aleatoria y que se debe tanto a las propias moléculas de ADN como a otros posibles contaminantes que entran en juego durante el proceso de incubación de las muestras.

6.6.5. Sensibilidad del Resonador ante un Cambio de Masa

El cambio en la frecuencia de resonancia se calcula utilizando el método de Rayleigh descrito anteriormente. La figura 6.12 muestra los cálculos numéricos de la frecuencia de resonancia de las palancas con el área de oro en el extremo libre en función de una masa depositada de manera uniforme sobre dicha región. Los cálculos dan una sensibilidad ante la adsorción de masa de 140ag/Hz. Hemos estimado que la contribución de las propiedades mecánicas de la capa de ADN al cambio de frecuencia total son, al menos, dos órdenes de magnitud menores que la contribución de la masa. Los valores usados en los cálculos son 78GPa para el módulo de Young del oro,

2900Kg m⁻³ para la densidad de masa del nitruro de silicio, 19300Kg m⁻³ para la densidad de masa del oro, los coeficientes de Poisson del nitruro de silicio y del oro son, respectivamente 0,27 y 0,44. El módulo de Young utilizado en las simulaciones para el nitruro de silicio es de 120GPa. Este valor se basa en las medidas de la frecuencia de resonancia para palancas fabricadas con el mismo material y el mismo espesor.

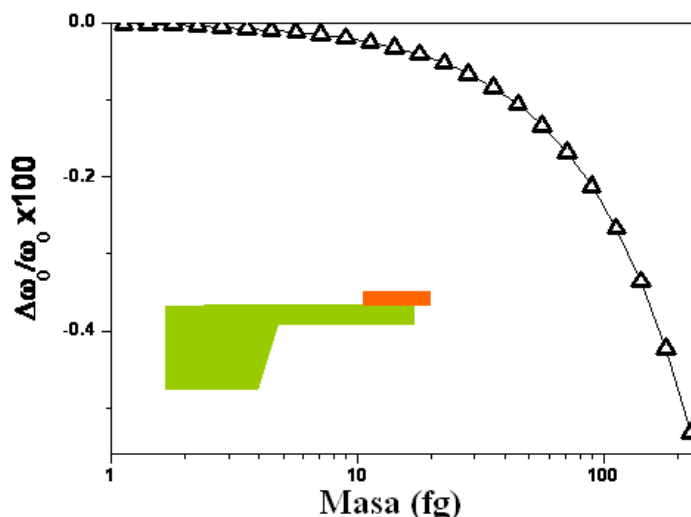


Figura 6.12. Simulación numérica utilizando el método de Rayleigh de la frecuencia de resonancia de las palancas con el oro en el extremo libre en función de una masa uniformemente depositada sobre el oro.

Las palancas con el oro en el extremo fijo presentan un comportamiento todavía más interesante. Por tanto, a partir de ahora, y salvo que se indique lo contrario, nos centraremos en este tipo de estructuras. Lo primero que encontramos es que la frecuencia de resonancia de estas palancas decrece enormemente con la adsorción de las moléculas de ADN-NC y se incrementa con el complementario.

El desplazamiento de la resonancia hacia frecuencias más bajas después de la adsorción del ADN-NC está relacionado con la masa añadida por la adsorción preferencial cerca del extremo libre de la palanca. Sin embargo, la hibridación está confinada cerca del extremo fijo, por lo que la respuesta viene dada por los cambios en la rigidez flexural de la palanca. De hecho, los cálculos a este respecto indican que la contribución de la masa añadida al cambio de frecuencia de resonancia son 50-100 veces menores que los debidos al cambio de rigidez. El mecanismo de aumento de la rigidez ha demostrado ser muy sensible en la detección de bacterias, capítulo 5. En ese caso, la frecuencia de resonancia se incrementaba debido a la rigidez de las bacterias adheridas a la superficie de la palanca. Sin embargo, la determinación de la rigidez de una capa bidimensional de moléculas biológicas no está bien definida en la literatura. La rigidez de una monocapa no se puede determinar a partir de las propiedades mecánicas de las moléculas individuales como sucede con los objetos volumétricos como las bacterias del capítulo anterior. En este caso la física de superficies juega un papel fundamental en la elasticidad bidimensional y puede influir significativamente en la frecuencia de resonancia de micropalancas ultradelgadas (espesores en el rango nanométrico) [21].

Los mecanismos a nivel superficial que pueden cambiar la frecuencia de resonancia de la palanca se pueden separar en dos términos. El primer mecanismo proviene del módulo de Young intrínseco de la monocapa de ADN depositada sobre la

palanca en las direcciones paralelas a la superficie. El módulo de Young efectivo de la capa viene dado por las interacciones a largo y corto alcance entre las moléculas de ADN y el potencial creado por el enlace químico entre el azufre del grupo tiol al final de cada molécula de ADN y los átomos de oro de la superficie. Este mecanismo incluye el efecto que otros autores llaman “tensión superficial dependiente de la deformación” [22]. En general este mecanismo se puede cuantificar computando la segunda derivada de la energía superficial con respecto a la deformación longitudinal de la palanca excluyendo los efectos debidos a la curvatura. En la literatura existen muy pocas medidas del módulo de Young de monocapas orgánicas y biológicas. En nuestros cálculos, hemos encontrado un efecto significativamente grande de la elasticidad de la capa sobre la frecuencia de resonancia para módulos de Young por encima de 1GPa (figura 6.13). Este valor está muy próximo a los valores de monocapas de alcanos y proteínas en su estado deshidratado.

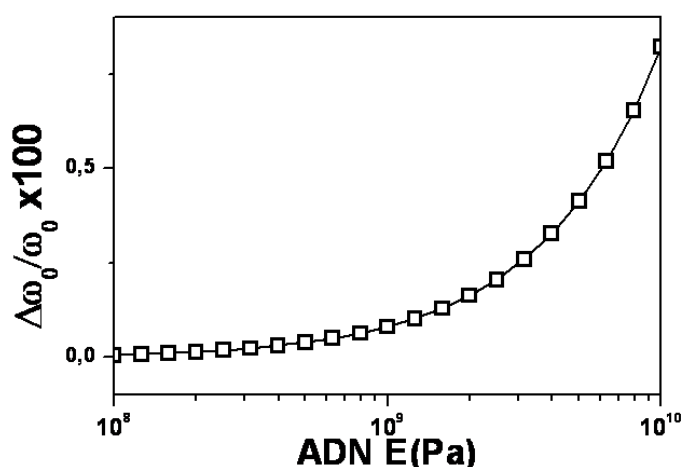


Figura 6.13. Simulación numérica utilizando el método de Rayleigh del efecto del módulo de Young de la capa adsorbida sobre el cambio de frecuencia de resonancia para la palanca con la capa de oro en el extremo fijo. En este cálculo el efecto de la masa sobre la frecuencia de resonancia es menor que 100ppm, por lo que puede despreciarse.

El segundo mecanismo que puede modificar la rigidez flexural de la palanca cerca del extremo fijo está relacionado con la tensión en el plano generada cerca de la base de la palanca debida a la adsorción de la capa. Este mecanismo depende de tanto la geometría de la palanca como de la tensión superficial generada por la adsorción. El efecto sobre la frecuencia de resonancia para una palanca ha sido recientemente modelizado por Lachut y Sader [23] y viene dado por

$$\frac{\Delta\omega}{\omega_0} \propto -\frac{1}{E_C T_C} \frac{W}{L} \left(\frac{W}{T_C} \right)^2 \sigma \quad (6)$$

donde, de nuevo, las dimensiones de la palanca ancho, largo y espesor vienen dadas por W , L y T_C , E_C es el módulo de Young de la palanca y σ es la tensión superficial generada por la adsorción. Este efecto comienza a ser cada vez más importante conforme las palancas son cada vez más delgadas y el cociente L/W es bajo. Se ha efectuado un estudio basado en simulaciones de elementos finitos del efecto de la

tensión superficial sobre la frecuencia de resonancia de nuestras palancas, figura 6.14. La frecuencia de resonancia muestra un comportamiento aproximadamente lineal con la tensión superficial.

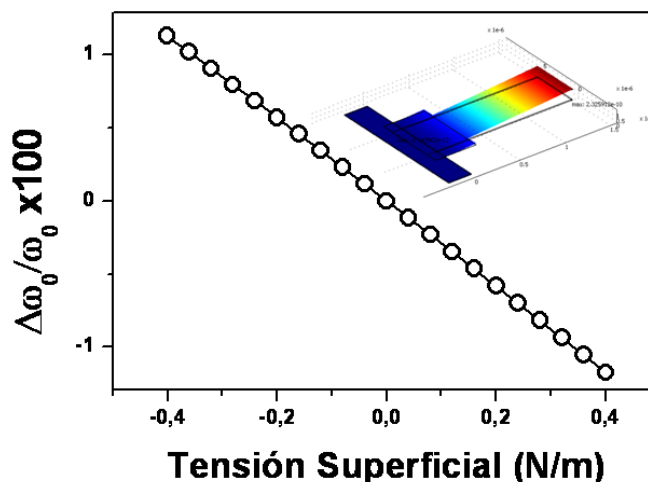


Figura 6.14. Simulación realizada por el método de elementos finitos del cambio relativo de frecuencia de resonancia de una palanca con el área de oro situada en el extremo fijo cuando se aplica una tensión superficial sólo a la zona del oro.

Las simulaciones de elementos finitos fueron realizadas utilizando el software comercial COMSOL Multiphysics™. Se han simulado únicamente las palancas con la zona cubierta de oro situada en el extremo fijo debido a que son estas estructuras las que muestran una respuesta de la frecuencia de resonancia no esperada debido a la adsorción molecular sobre la superficie de oro. La malla de puntos utilizada en esta simulación consiste en bloques tetraédricos con tamaños dependientes de las condiciones de contorno para tener en cuenta la estructura detallada de la zona cubierta de oro. La malla consta de 20478 elementos individuales y no se han encontrado diferencias significativas con cálculos preliminares utilizando una estructura compuesta por 74793 elementos (figura 6.15). La estructura de oro en estas simulaciones tiene tres capas de elementos en la dirección del espesor. Con el fin de computar el cambio de la frecuencia de resonancia se induce una deformación en la capa superior de la estructura de oro y, mediante las conocidas relaciones tensión–deformación se relaciona con la tensión superficial.

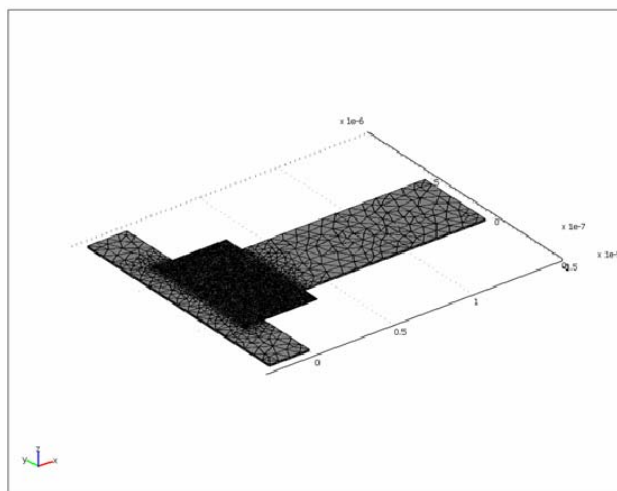


Figura 6.15. Esquema que muestra la geometría utilizada en la simulación por elementos finitos de las palancas con la zona de oro sobre el extremo fijo. La estructura consta de 20478 elementos.

Se ha medido la tensión superficial inducida por la hibridación del ADN midiendo el cambio en la curvatura de micropalancas cubiertas de oro. El valor medio de la tensión superficial inducida por la hibridación es de $-0,001\text{N/m}$, lo que da un valor despreciable del cambio en la frecuencia de resonancia. Por tanto, la respuesta de las palancas con el área de oro en el extremo fijo se puede atribuir al aumento de la rigidez de la capa de ADN debido a la hibridación [24].

En la literatura se pueden encontrar medidas llevadas a cabo mediante un aparato de fuerzas superficiales que indican que las monocapas compuestas por hebras sencillas de ADN terminado en un grupo tiol incrementan de modo significativo su módulo de cizalla debido a la hibridación. Está bien establecido que las monocapas de ADN de doble hélice son significativamente más rígidas que las capas de una única cadena. Esto es debido a que la hebra sencilla de ADN tiene una longitud de persistencia mucho más corta ($\approx 0.75\text{nm}$) que la doble hélice ($\approx 50\text{nm}$) [25]. Sin embargo, a raíz de estos experimentos podemos concluir que la contribución de la tensión superficial no puede despreciarse en otros casos, como la adsorción de monocapas autoensambladas que generan una tensión superficial grande. En esos casos, la elasticidad bidimensional y la tensión superficial contribuyen al cambio de frecuencia de resonancia.

6.7. CONCLUSIONES

Se ha demostrado que la utilización de matrices de palancas con zonas sensibles a la adsorción alternativamente dispuestas en ambos extremos proporciona una doble señal proveniente de la adsorción de moléculas. Se ha aplicado este concepto a la detección de ADN. Las palancas con el área de oro en el extremo libre actúan principalmente como sensores de masa, proporcionando una sensibilidad limitada para esta aplicación. Sin embargo, las palancas con el área de oro cerca del extremo libre proporcionan una alta sensibilidad y una buena selectividad para distinguir el ADN complementario del ADN no complementario. Esta selectividad se ve beneficiada por la difusión de moléculas hacia el extremo libre de la palanca. Estas palancas son sensibles principalmente a los cambios en la rigidez flexural de la palanca cerca del extremo fijo.

Todavía es necesario un trabajo más profundo, tanto a nivel teórico como experimental, con el fin de dilucidar las interacciones intermoleculares responsables de la variación de la rigidez flexural debido a la adsorción de monocapas de moléculas biológicas. Sin embargo, los resultados indican que la combinación de resonadores nanomecánicos con diferentes tipos de geometrías los hacen sensibles a diferentes propiedades de los adsorbatos es el camino a seguir para conseguir la detección ultrasensible y específica de moléculas de interés biológico.

REFERENCIAS

1. M. M.-C. Cheng, G. Cuda, Y. L. Bunimovich, M. Gaspari, J. R. Heath, H. D. Hill, C. A. Mirkin, A. J. Nijdam, R. Terracciano, T. Thundat, M. Ferrari "Nanotechnologies for biomolecular detection and medical diagnostics". *Current Opinion in Chemical Biology* **10**, 11-19 (2006).
2. T. P. Burg, M. Godin, S. M. Knudsen, W. Shen, G. Carlson, J. S. Foster, K. Babcock, S. R. Manalis "Weighing of biomolecules, single cells and single nanoparticles in fluid" *Nature* **446**, 1066-1069 (2007).
3. R. McKendry, J. Zhang, Y. Arntz, T. Strunz, M. Hegner, H. P. Lang, M. K. Baller, U. Certa, E. Meyer, H.-J. Güntherodt, C. Gerber "Multiple label-free biodetection and quantitative DNA-binding assays on a nanomechanical cantilever array" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 9783-9788 (2002).
4. J. Mertens, C. Rogero, M. Calleja, D. Ramos, J. A. Martín-Gago, C. Briones, J. Tamayo "Label-free detection of DNA hybridization based on hydration-induced tension in nucleic acid films" *Nature Nanotechnology*. **3**, 301-307 (2008).
5. P. S. Waggoner, H. G. Craighead "Micro- and nanomechanical sensors for environmental, chemical, and biological detection" *Lab Chip* **7**, 1238 – 1255 (2007).
6. Y. T. Yang, C. Callegari, X. L. Feng, K. L. Ekinici, M. L. Roukes "Zeptogram-Scale Nanomechanical Mass Sensing" *Nano Lett.* **6**, 583–586 (2006).
7. B. Ilic, Y. Yang, K. Aubin, R. Reichenbach, S. Krylov, H. G. Craighead "Enumeration of DNA Molecules Bound to a Nanomechanical Oscillator" *Nano Lett.* **5**, 925–929 (2005).
8. A. Gupta, D. Akin, R. Bashir "Single virus particle mass detection using microresonators with nanoscale thickness" *Appl. Phys. Lett.* **84**, 1976-1978 (2004).
9. K. Jensen, K. Kim, A. Zettl "An atomic-resolution nanomechanical mass sensor" *Nature Nanotechnology* **3**, 533 - 537 (2008).
10. Th. Wink, J. van Zuilen, A. Bult, W. P. van Bennekom "Self-assembled monolayers for biosensors" *Analyst* **122**(4), 43R-50R (1997).
11. J. E. Sader "Frequency response of cantilever beams immersed in viscous fluids with applications to the atomic force microscope" *J. Appl. Phys.* **84**(1), 64-66 (1998).
12. T. Braun, V. Barwich, M. K. Ghatkesar, A. H. Bredekamp, C. Gerber, M. Hegner, H. P. Lang "Micromechanical mass sensors for biomolecular detection in a physiological environment" *Phys. Rev. E* **72**, 031907 (2005).

13. D. Ramos, J. Mertens, M. Calleja, J. Tamayo "Photothermal self-excitation of nanomechanical resonators in liquids" *Appl. Phys. Lett.* **92**, 173108 (2008).
14. M. Varshney, P. S. Waggoner, C. P. Tan, K. Aubin, R. A. Montagna, H. G. Craighead "Prion Protein Detection Using Nanomechanical Resonator Arrays and Secondary Mass Labeling" *Anal. Chem.* **80**, 2141-2148. (2008).
15. A. K. Gupta, P. R. Nair, D. Akin, M. R. Ladisch, S. Broyles, M. A. Alam, R. Bashir "Anomalous resonance in a nanomechanical biosensor" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 13362–13367 (2006).
16. T. M. Squires, R. J. Messinger, S. R. Manalis "Making it stick: convection, reaction and diffusion in surface-based biosensors" *Nature Biotechnology* **26**, 417 - 426 (2008).
17. J. Tamayo, D. Ramos, J. Mertens, M. Calleja "Effect of the adsorbate stiffness on the resonance response of microcantilever sensors" *Appl. Phys. Lett.* **89**, 224104 (2006).
18. J. Tamayo, M. Calleja, D. Ramos, J. Mertens "Underlying mechanisms of the self-sustained oscillation of a nanomechanical stochastic resonator in a liquid" *Phys. Rev. B* **76**, 180201 (2007).
19. D. Ramos, J. Tamayo, J. Mertens, M. Calleja, A. Zaballos "Origin of the response of nanomechanical resonators to bacteria adsorption" *J. Appl. Phys.* **100**, 106105 (2006).
20. D. Ramos, J. Tamayo, J. Mertens, M. Calleja, L. G. Villanueva, A. Zaballos "Detection of bacteria based on the thermomechanical noise of a nanomechanical resonator: origin of the response and detection limits" *Nanotechnology* **19**, 035503 (2008).
21. J. W. Ndieyira, M. Watari, A. D. Barrera, D. Zhou, M. Vögtli, M. Batchelor, M. A. Cooper, T. Strunz, M. A. Horton, C. Abell, T. Rayment, G. Aeppli, R. A. McKendry "Nanomechanical detection of antibiotic–mucopeptide binding in a model for superbug drug resistance" *Nature Nanotechnology* **3**, 691 - 696 (2008).
22. P. Lu, H. P. Lee, C. Lu, S. J. O'Shea "Surface stress effects on the resonance properties of cantilever sensors" *Phys. Rev. B* **72**, 085405 (2005).
23. M. J. Lachut, J. E. Sader "Effect of Surface Stress on the Stiffness of Cantilever Plates" *Phys. Rev. Lett.* **99**(20), 206102 (2007).
24. Y. -K. Cho, S. Kim, G. Lim, S. A. Granick "Surface Forces Study of DNA Hybridization" *Langmuir* **17**(25), 7732-7734 (2001).
25. M. P. Hagan, A. Majumdar, A. K. Chakraborty "Nanomechanical Forces Generated by Surface Grafted DNA" *J. Phys. Chem. B*, **106**, 10163-10173 (2002).

Apéndice A

Efecto de la Deformación Inducida en la Palanca sobre su Frecuencia de Resonancia

El presente apéndice está dedicado al estudio del efecto que tiene sobre la frecuencia de resonancia de la micropalanca una deformación inducida en la misma. Estudiaremos las deformaciones inducidas en los tres ejes espaciales de la micropalanca. Para ello se deposita una capa de un material magnetostrictivo, en concreto una aleación de hierro-boro, sobre una micropalanca comercial. La palanca recubierta de este modo se introduce en el campo magnético generado por dos bobinas, de modo que, variando la posición relativa de la palanca con respecto de las bobinas la capa magnetostrictiva sufre diferentes tipos de deformaciones. Al mismo tiempo medimos la frecuencia de resonancia de la palanca mediante el sistema de deflexión de haz, con lo que podemos relacionar los cambios inducidos por el campo magnético con el cambio en la frecuencia de resonancia.

A.1. INTRODUCCIÓN

En este Apéndice vamos a abordar un problema de extraordinaria importancia en el campo de los sensores nanomecánicos, el efecto de la deformación sobre la frecuencia de resonancia. Y es que en los últimos años los sensores basados en micro – y nano – resonadores están adquiriendo gran importancia en campos muy diferentes entre sí [1 – 4]. Tal y como hemos apuntado en la introducción, existen dos principios básicos de actuación, los modos estático y dinámico. El modo estático mide las deflexiones de la palanca debidas a una tensión diferencial entre sus dos caras [5]. Mientras que el modo dinámico mide los cambios en la resonancia de la palanca. Estos cambios en la frecuencia pueden ser debidos a cambios de masa [6], de constante elástica debidos a un incremento de la rigidez de la palanca, cambios en las propiedades reológicas del medio (densidad y viscosidad) y cambios en las fuerzas que actúan sobre la palanca (tensión).

Sin embargo, mientras que los efectos sobre la frecuencia de resonancia de la masa, las propiedades mecánicas de la capa adsorbida [7 – 9] y las propiedades reológicas del medio [10] están bien descritas en la literatura, los efectos de la tensión todavía suscitan gran controversia en el campo. Hay dos maneras diferentes de tratar el problema. Mientras que muchos autores consideran que la tensión generada sobre la palanca tiene un gran efecto sobre la resonancia de la palanca argumentando para ello la existencia de una fuerza axial en el eje neutro [11 – 13] otros estudios cuestionan la existencia de dicha fuerza, con lo que desprecian el efecto de la tensión [14, 15].

En el presente apéndice abordaremos esta cuestión a partir del análisis de las deformaciones inducidas en la palanca. Primero introduciremos un análisis general de los efectos de la deformación siguiendo el mismo razonamiento expuesto en el Capítulo 1. Después, utilizando el método de Rayleigh, descrito en el Capítulo 3, obtendremos los cambios en la frecuencia de resonancia debidos a deformaciones inducidas en los tres ejes de la palanca.

La comprobación experimental vendrá dada de la mano de palancas comerciales que han sido recubiertas de una aleación de hierro – boro. Se ha elegido esta aleación porque en un experimento de una adsorción biológica convencional se cambian al mismo tiempo tanto las propiedades mecánicas de la palanca como la masa depositada, con lo que no se pueden desacoplar los efectos de las fuerzas aplicadas. Esta aleación es conveniente para nuestro estudio porque se comporta como un material ferromagnético para campos aplicados en la dirección perpendicular al plano de la palanca y al mismo tiempo presenta magnetostricción cuando el campo se aplica en el plano de la palanca. La anisotropía magnética asegura la presencia de un eje fácil de imanación. Este eje se fija durante el proceso de fabricación y está orientado de manera perpendicular a la longitud de la palanca. Por tanto, tenemos dos comportamientos diferentes orientando el campo magnético de manera paralela o perpendicular al eje de la palanca.

De este modo podemos inducir tres tipos de deformaciones diferentes sobre los tres ejes espaciales de la palanca. Cada deformación inducida se corresponde con un patrón de curvatura diferente que se relacionará con el cambio en la frecuencia tomando el perfil de la palanca mediante la técnica de perfilometría óptica descrita en el capítulo primero.

A.2. TENSOR DEFORMACIÓN

A continuación vamos a recordar los resultados más relevantes vistos en el Capítulo 1. Para calcular la curva de deflexión de la palanca, asumiremos primero que el sistema se encuentra en equilibrio, con lo que podemos emplear el principio de mínima energía. Para obtener la energía potencial de la palanca sometida a fuerzas en el plano necesitamos expresar las deformaciones inducidas a través de deflexiones transversales [16].

Tal y como explicamos en su momento, el tensor deformación lagrangiano se obtiene a partir del estudio de deformaciones finitas de un segmento de línea en una estructura tridimensional. Denotando los desplazamientos finitos como u_i , u_j y u_k en un espacio de tres dimensiones, ($i,j,k= 1,2,3$) el tensor deformación se puede expresar como

$$\varepsilon_{ij} = \frac{1}{2} (u_{i,j} + u_{j,i} + u_{k,i} u_{k,j}) \quad (\text{A.1})$$

donde asumimos el convenio de los índices repetidos. Las derivadas parciales se denotan mediante un subíndice precedido por una coma, por ejemplo $u_{i,j} = \partial u_i / \partial u_j$.

Para deflexiones pequeñas el tensor deformación se puede reducir a una deformación de segundo orden en el plano debido al desplazamiento vertical

$$\varepsilon_{ij} = \frac{1}{2} w_{,i} w_{,j} \quad (\text{A.2})$$

donde $u_3 = w$ es el desplazamiento vertical.

A.3. ENERGÍAS DE DEFORMACIÓN

Tal y como vimos en el Capítulo 1, la energía potencial del sistema se puede calcular como la suma de tres contribuciones diferentes, que se corresponden con la parte lineal del tensor deformación, la parte no lineal y el resto de fuerzas que actúan sobre la palanca.

La primera contribución al cambio de energía debido a la deformación es la energía de deformación debida a la deflexión vertical de la palanca

$$U_1 = \iint_A \frac{1}{2} M_{ij} w_{,ij} dA = \frac{1}{2} \iint_A D_{ijkl} w_{,ij} w_{,kl} dA \quad (\text{A.3})$$

donde M_{km} son los momentos de curvatura y D_{ijkl} es el tensor de rigidez flexural, que se define mediante la siguiente relación

$$M_{km} = D_{ijkl} w_{,ij}$$

Nótese que esta definición tiene en cuenta la simplificación del tensor deformación a pequeñas deflexiones transversales.

La segunda contribución a la energía potencial del sistema debido a las deformaciones producidas en el plano

$$U_2 = \iint_A \frac{1}{2} N_{ij} w_{,j} w_{,i} dA \quad (A.4)$$

donde N_{ij} son las fuerzas en el plano que originan las componentes de segundo orden del tensor deformación.

Por último, sólo nos queda el trabajo sobre la palanca que realizan las cargas transversales distribuidas a lo largo de la palanca

$$W = \iint_A p w dA \quad (A.5)$$

La energía potencial total será $U_1 + U_2 - W$, donde el signo de la carga p indica que se realiza en contra de la palanca,

$$U = \frac{1}{2} \iint_A (D_{ijkl} w_{,ij} w_{,kl} + N_{ij} w_{,j} w_{,i} - 2pw) dA \quad (A.6)$$

A.4. ECUACIÓN DIFERENCIAL DE EQUILIBRIO

La deducción en detalle de la ecuación diferencial de movimiento está recogida en el Capítulo 1, por lo que sólo vamos a recoger los resultados más relevantes. Tenemos que aplicar el principio de minimización del trabajo, es decir $\delta(U_1 + U_2 - W) = 0$. Utilizando las propiedades de simetría del tensor de rigidez flexural llegamos a

$$\delta U_1 = \int \nu_m D_{ijkl} w_{,ij} \delta w_{,k} ds - \int \nu_k D_{ijkl} w_{,ijm} \delta w ds + \iint D_{ijkl} w_{,ijkl} \delta w dA \quad (A.7)$$

$$\delta U_2 = \int \nu_j N_{ij} w_{,i} \delta w ds + \iint F_i w_{,i} \delta w dA - \iint N_{ij} w_{,ij} \delta w dA \quad (A.8)$$

$$\delta W = \iint p \delta w dA \quad (A.9)$$

En el equilibrio debe cumplirse que $\delta U_1 + \delta U_2 - \delta W = 0$, por tanto, la ecuación diferencial de equilibrio para las deflexiones estáticas se puede escribir como

$$\iint (D_{ijkl} w_{,ijkl} - N_{ij} w_{,ij} + F_i w_{,i} - p) \delta w dA + \int (V_v^N + V_v^M) \delta w ds + \int M_k \delta w_{,k} ds = 0 \quad (A.10)$$

donde $V_v^N = \nu_j N_{ij} w_{,i}$, $V_v^M = -\nu_k D_{ijkl} w_{,ijm}$ y $M_k = \nu_m D_{ijkl} w_{,ij} = \nu_m M_{km}$ y ν es el coeficiente de Poisson. F_i son las cargas en el plano distribuidas a lo largo de la palanca en el estado inicial, que se escriben como $F_i = -N_{ij,j}$.

En la figura A.1.a se muestra el cambio en el perfil de la palanca calculado de forma teórica induciendo diferentes tipos de deformaciones en las tres direcciones del espacio. La línea continua corresponde con la curva de deflexión clásica obtenida mediante el modelo de Stoney, la línea discontinua muestra los efectos de las deformaciones en el plano causadas por una carga axial y la línea punteada es el cambio en el perfil de la palanca debido a una carga homogénea a lo largo de toda la palanca que actúa en la dirección transversal a la misma. Con el fin de facilitar la comparación entre los diferentes tipos de perfiles todos han sido normalizados.

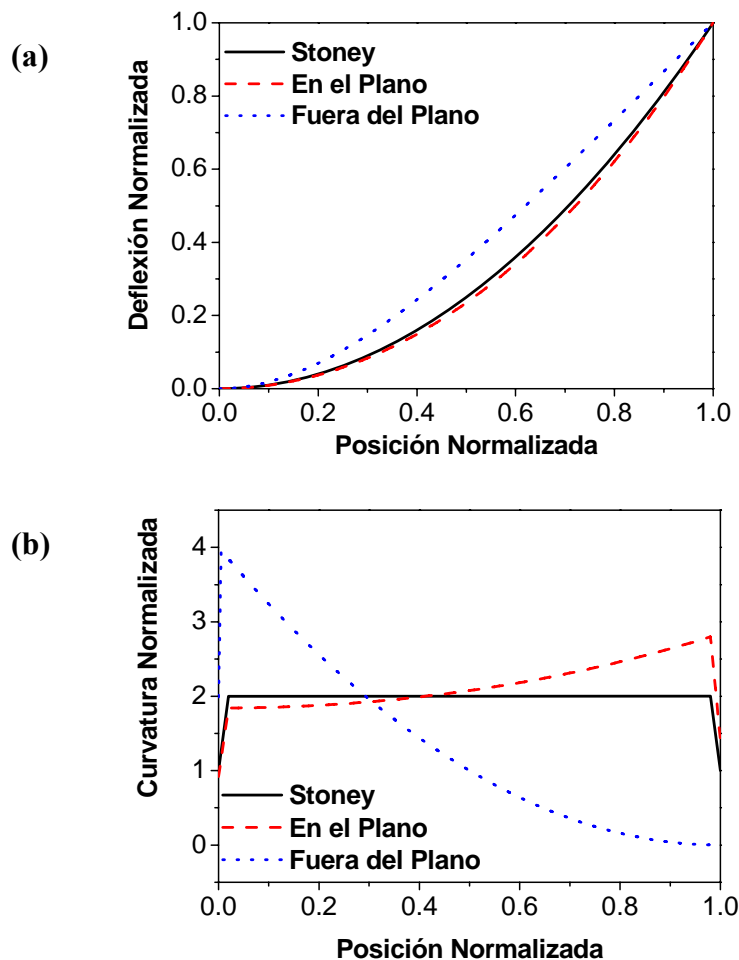


Figura A. 1.a. Perfil de la palanca su poniendo que no tiene ninguna deformación inducida (línea continua), que tiene deformaciones en el plano (línea discontinua) y que está sometida a cargas perpendiculares al plano de la palanca (línea punteada). b. Curvaturas correspondientes a los tres casos anteriores: Stoney (línea continua), deformaciones en el plano (línea discontinua) y carga transversal (línea punteada).

La figura A.1.b muestra las curvaturas correspondientes a los diferentes tipos de perfiles simulados para la palanca. La curvatura correspondiente al modelo de Stoney es constante a lo largo de toda la palanca, línea continua. Las curvaturas correspondientes a la palanca cargada axialmente o de forma transversal (curvas discontinua y punteada respectivamente) muestran una desviación respecto a la curvatura correspondiente a la palanca sin deformaciones inducidas (modelo de Stoney).

A.5. RESPUESTA DINÁMICA DE LA PALANCA

La respuesta dinámica de la palanca está descrita mediante la ecuación de Euler – Bernoulli, Capítulo 1. Despreciando los posibles efectos de cizalla que puedan existir en la palanca así como los rozamientos, tanto internos como externos, la ecuación de movimiento para la viga viene descrita mediante la siguiente ecuación

$$D_{ijk} w_{,ijk} - N_{ij} w_{,ij} + F_i w_{,i} - p + \mu_{ij} w_{,tt} = 0 \quad (A.11)$$

donde t es la coordenada temporal y designamos por μ_{ij} a la densidad lineal de masa.

Para calcular la frecuencia de resonancia de la palanca vamos a recurrir al método de Rayleigh. Tal y como se describió en la sección correspondiente, este método deduce la resonancia de la palanca igualando las energías cinética y potencial por ciclo de oscilación. La energía cinética se puede escribir como

$$K = \frac{1}{2} \iint_A \mu_{ij} w_{,t} w_{,t} dA \quad (A.12)$$

Igualando la energía potencial, ecuación A.10, y la cinética, A.12, y asumiendo que la oscilación es armónica, $w(x,t) = \psi(x) \cos(\omega t + \phi)$, donde $\psi(x)$ es la parte espacial de la solución de la ecuación A.11, ω es la frecuencia de resonancia y ϕ es el valor arbitrario de la fase de vibración, la frecuencia de resonancia se puede calcular como $\langle U \rangle = \omega^2 \langle K \rangle$.

A.6. RESULTADOS EXPERIMENTALES

Para este experimento se han utilizado palancas comerciales de silicio monocristalino (MikroMash). Las dimensiones nominales de estas palancas son 400 μm de largo, 100 μm de ancho y 1 μm de espesor. Para el recubrimiento de estas palancas se ha utilizado una técnica de “sputtering”, con la que se ha depositado una capa de 75nm de espesor de una aleación amorfa de $\text{Fe}_{80}\text{B}_{20}$ que, como hemos indicado anteriormente, presenta propiedades magnetostrictivas.

Los perfiles experimentales de la palanca se han medido mediante la técnica descrita en la sección 1.2.5.1 [17]. Tal y como se menciona en dicha sección, esta técnica se basa reconstruir la deflexión relativa de la palanca utilizando la técnica de la deflexión de haz haciendo que el spot del láser barra la palanca en sentido longitudinal.

Es bien conocido en la literatura [18] que la aleación hierro – boro presenta un alto coeficiente de magnetostricción en la saturación magnética, $\lambda_s = \delta l / l|_s = +35 \times 10^{-6}$, donde δl es el cambio en la longitud de la palanca, l es la longitud inicial. Esta aleación presenta además unas propiedades mecánicas muy apropiadas para la industria microelectrónica [19]. Por tanto, es posible obtener diferentes tipos de deformaciones colocando la palanca en diferentes orientaciones con respecto al campo magnético

estático aplicado. Tenemos tres tipos de configuraciones diferentes a lo largo de las tres direcciones del espacio, figura A.2.

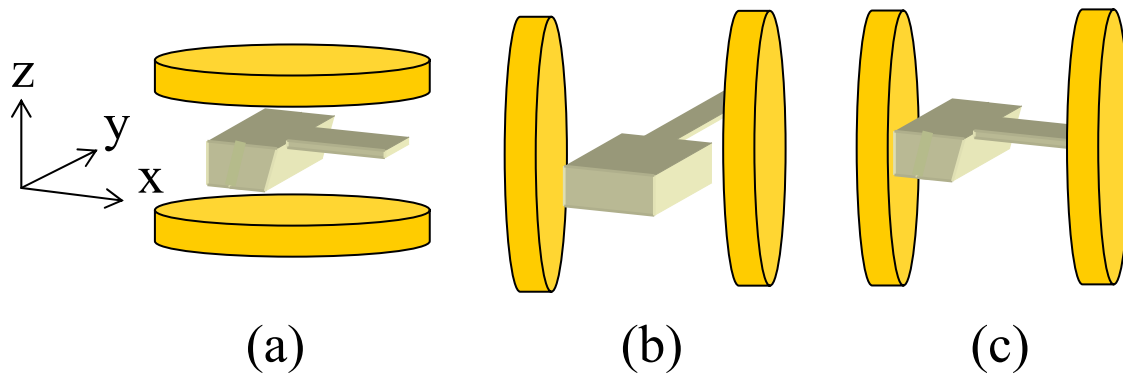


Figura A.2. Distintas configuraciones del campo magnético para generar una fuerza perpendicular al plano de la palanca (a), o deformaciones en perpendiculares (b), o paralelas (c), al eje de la palanca.

A.7. DEFORMACIONES EN EL PLANO

Las deformaciones en el plano se consiguen orientando el campo magnético de forma paralela o perpendicular al eje de la palanca, figura A.2.b y A.2.c. La aleación amorfa presenta una anisotropía uniaxial a lo largo del borde largo de la palanca, esto es, la magnetización permanece paralela a dicho eje cuando no se aplica ningún campo magnético. Cuando se aplica un campo de forma perpendicular al eje fácil de imanación, figura A.2.b, hay una rotación de la magnetización desde el eje fácil a través del acoplamiento magneto elástico, produciendo una deformación a lo largo de dicha dirección. En el caso de un material que presenta una magnetostricción positiva esta elongación es positiva. Cuando el campo magnético es paralelo al eje fácil de imanación, figura A.2.c, el material no presenta magnetostricción debido a que el proceso de magnetización es el opuesto al de la magnetostricción, y las deformaciones magneto elásticas originan rotaciones de la magnetización.

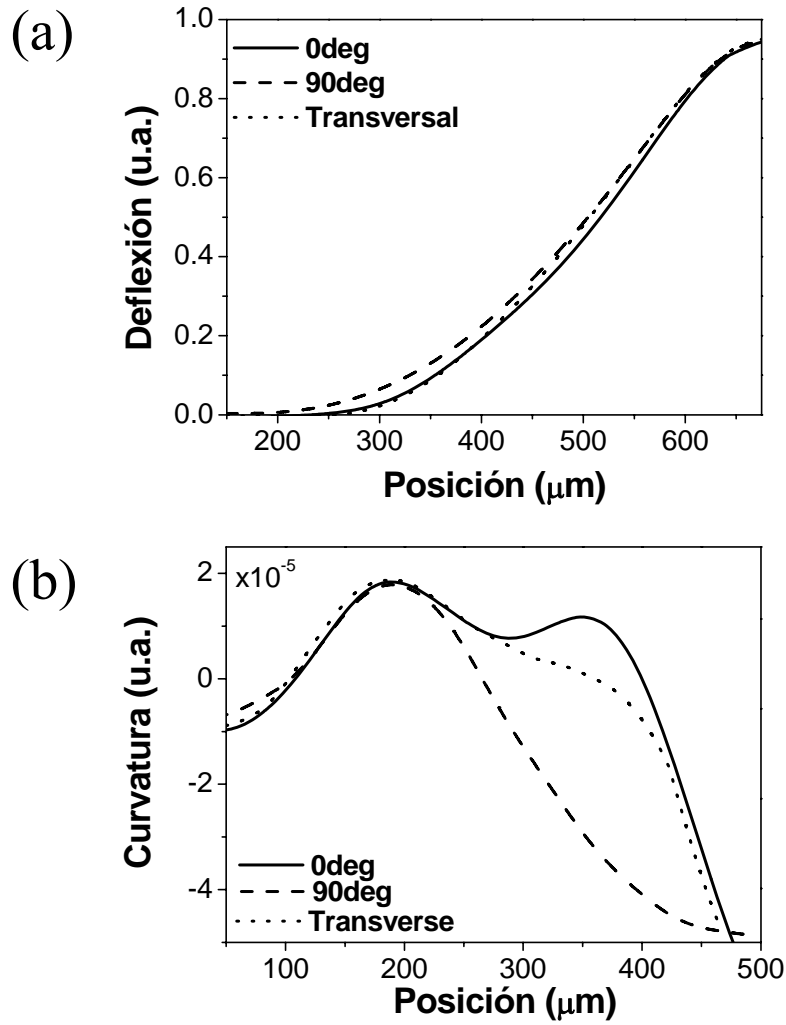


Figura A.3.a. Medida experimental de los perfiles de u en una palanca recubierta con un material magnetostrictivo en diferentes configuraciones del campo magnético: paralelo al eje de la palanca (línea continua), perpendicular a dicho eje (línea discontinua) y perpendicular al plano de la palanca (línea punteada). b. Medida experimental de las curvaturas medidas a partir de los perfiles anteriores en las tres configuraciones del campo magnético.

El campo magnético perpendicular a la longitud de la palanca utiliza la expresión general del tensor de deformación, ecuación A.1. La deflexión estática viene dada por la ecuación diferencial A.10. La resonancia se modifica ahora teniendo en cuenta las nuevas contribuciones a la energía potencial

$$\omega = \sqrt{\frac{\iint_A (D_{ijkl} \psi_{,ij} \psi_{,kl} + N_{ij} \psi_{,j} \psi_{,i}) dA}{\iint_A \mu_{ij} \psi_{,i} \psi_{,j} dA}} \quad (\text{A.13})$$

Como ya explicamos anteriormente, la exactitud del método de Rayleigh depende de la precisión en la determinación de la curva de deflexión de la palanca.

Despreciando el efecto de las fuerzas aplicadas en la forma de los modos, el desplazamiento vertical se escribe como, ver Capítulo 1

$$\psi = A \left(\sin(kx) - \sinh(kx) + \frac{\sin(kL) + \sinh(kL)}{\cos(kL) + \cosh(kL)} (\cosh(kx) - \cos(kx)) \right) \quad (\text{A.14})$$

donde k son las diferentes soluciones de $\cosh(kx)\cos(kx) + 1 = 0$.

Tal y como se puede observar en la figura A.3.a, línea discontinua, el perfil medido experimentalmente no sigue la predicción de Stoney, mostrando un cambio de frecuencia de resonancia de $(-0.27 \pm 0.05)\%$. Como la magnetostricción es un efecto par, el cambio de frecuencia de resonancia es negativo independientemente de la dirección del campo magnético aplicado, figura A.4.b. Como se puede observar en la figura A.3.b, la curvatura medida experimentalmente no es constante a lo largo de la longitud de la palanca.

El campo magnético aplicado de forma paralela al eje largo de la palanca, figura A.2.c. no debería producir ninguna deformación. Sin embargo, la existencia de una pequeña curvatura inicial de la palanca puede inducir un gradiente de campo lo suficientemente grande como para observar una fuerza medible, línea continua en la figura A.3.a. Este es el caso experimental más parecido al caso ideal de Stoney que podemos observar, tal y como se aprecia en la curvatura, línea continua en la figura A.3.b, que es prácticamente constante a lo largo de toda la palanca.

En este caso podemos utilizar la forma lineal del tensor deformación, ecuación A.2. La energía potencial se ve afectada únicamente en la energía de la deformación U_1 , ecuación A.3. La ecuación que describe las deflexiones estáticas en este caso es la ecuación diferencial de Stoney. La ausencia de deformaciones en el plano implica que la energía potencial no se ve afectada por una deformación tipo Stoney, por lo que la frecuencia de resonancia se puede escribir en este caso como

$$\omega = \sqrt{\frac{\iint_A D_{ijkl} \psi_{,ij} \psi_{,km} dA}{\iint_A \mu_{ij} \psi_{,i} \psi_{,j} dA}} \quad (\text{A.15})$$

Esta energía potencial nos lleva a una frecuencia de resonancia de la palanca similar a la calculada mediante la teoría de Euler – Bernouilli cuando tenemos una vibración libre [7]. Experimentalmente hemos observado un cambio de frecuencia de resonancia que está por debajo del límite de resolución de nuestro sistema experimental $(-0.04 \pm 0.05)\%$, por lo que puede considerarse a todos los efectos como despreciable, figura A.4.a.

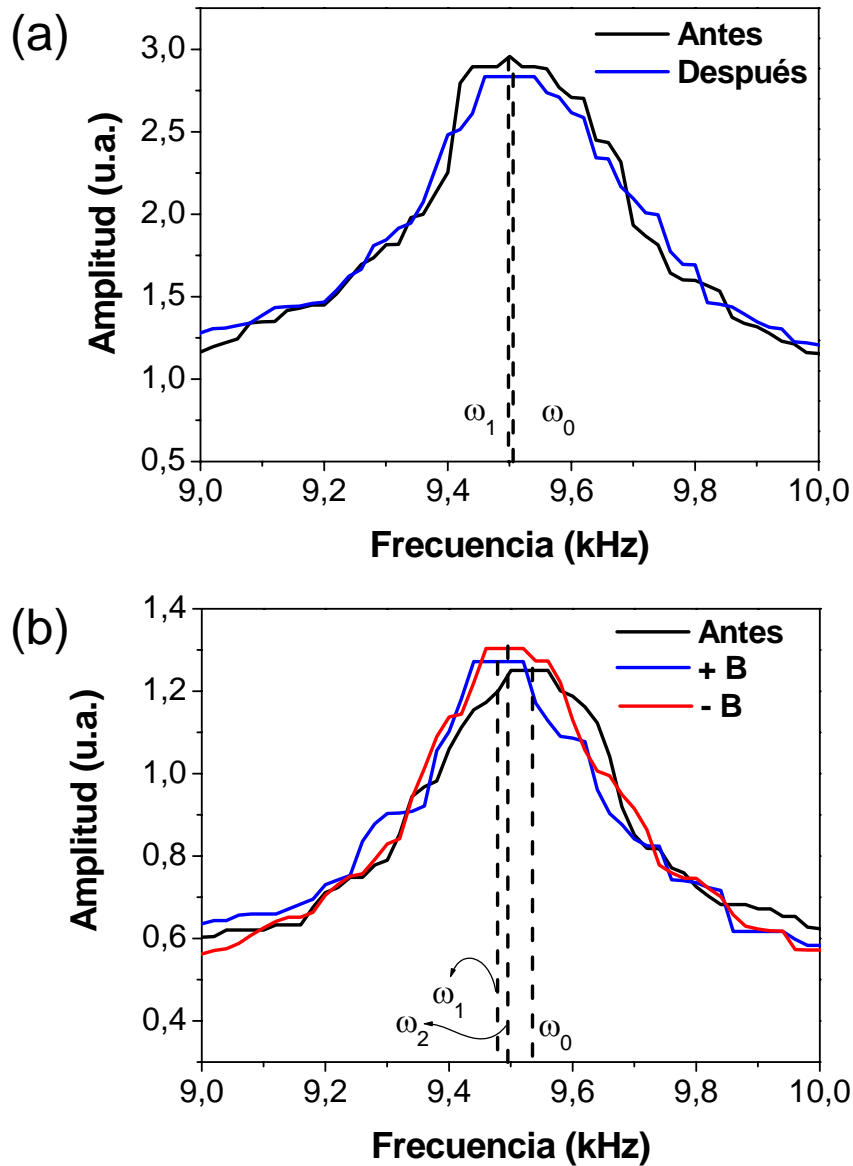


Figura A.4.a. Espectro de la vibración antes (línea negra) y después (línea azul) de poner un campo magnético de forma paralela al eje de la palanca. b. Espectro de la oscilación de la palanca antes (línea negra) y después de someter la palanca a un campo magnético perpendicular al eje de la misma en la dirección positiva del eje y (línea azul) o en la dirección opuesta (línea roja).

A.8. FUERZA APLICADA FUERA DEL PLANO DE LA PALANCA

Con el fin de producir una deformación en el plano perpendicular a la superficie de la palanca, orientamos el campo magnético tal y como se describe en la figura A.2.a. Esta configuración del campo produce un perfil típico que se aleja de la predicción de Stoney, línea punteada en la figura A.1.a. Experimentalmente podemos comprobar esta diferencia, línea punteada en la figura A.3.a. La curvatura medida experimentalmente

decrece de forma lineal, línea punteada en la figura A.3.b, tal y como predecía la teoría en la figura A.1.b.

Despreciando las contribuciones provenientes de las deformaciones originadas en las otras direcciones de la palanca, podemos suponer que la energía potencial viene dada por la ecuación A.5, con lo que la frecuencia de resonancia se puede escribir como

$$\omega = \sqrt{\frac{\iint_A (D_{ijkl} \psi_{,ij} \psi_{,kl} + 2p\psi) dA}{\iint_A \mu_{ij} \psi_{,ij} dA}} \quad (\text{A.16})$$

La figura A.5 muestra el cambio en la frecuencia de resonancia variando el campo magnético aplicado en la dirección transversal a la superficie de la palanca. Como se puede ver a partir de la ecuación A.16, la dependencia del cambio de frecuencia con el campo magnético no es lineal. A diferencia del efecto de magnetostricción, la fuerza ferromagnética, que es la que actúa en esta configuración de campo, es una fuerza impar, lo que implica que, dependiendo de la dirección del campo magnético el cambio en la frecuencia de resonancia será positivo o negativo.

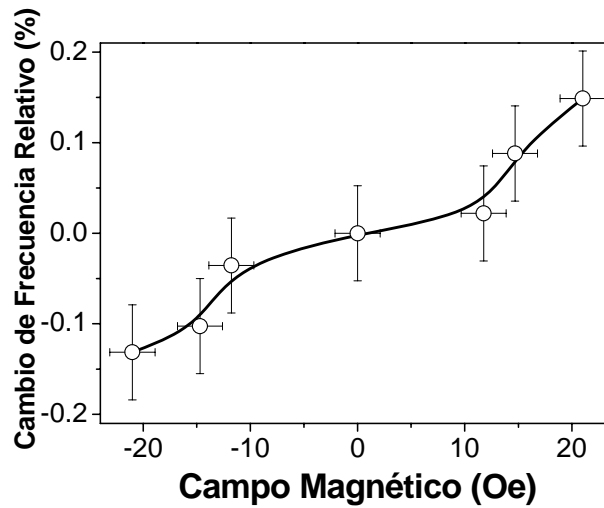


Figura A.5. Cambio de la frecuencia de resonancia de la palanca con el campo magnético aplicado en la dirección transversal a la superficie de la palanca.

A.9. CONCLUSIONES

En este Apéndice hemos visto que para el caso de pequeñas deformaciones transversales el modelo de Stoney es lo suficientemente preciso como para describir el perfil de la palanca observado experimentalmente. En este caso no se observa un cambio en la frecuencia de resonancia, tal y como se predice teóricamente. A través de una orientación adecuada del campo magnético, es posible obtener diferentes escenarios de cargas en la palanca, incluyendo una fuerza en el eje de la misma. Esta carga afecta a la frecuencia de resonancia de la palanca. Como este efecto es una consecuencia directa de la magnetostricción de la capa de hierro – boro, no depende del signo del campo

magnético aplicado. El tercer tipo de deformaciones inducidas en la palanca es el resultado de una carga vertical homogénea. En este caso, cambiando el signo del campo es posible desplazar la resonancia de la palanca hacia frecuencias más altas o bajas. Se propone un método basado en la medida de la curvatura de la palanca para saber cuando la resonancia se ve afectada por la presencia de fuerzas externas en la palanca. Cuando la curvatura es constante a lo largo de toda la longitud de la palanca (ecuación de Stoney) la resonancia no se ve alterada por la presencia de fuerzas externas, estando todas las demás configuraciones de campo afectadas.

REFERENCIAS

1. K. L. Ekinci, M. L. Roukes “Nanoelectromechanical systems” *Rev. Sci. Instrum.*, **76**, 061101 (2005).
2. P. S. Waggoner, H. G. Craighead “Micro- and nanomechanical sensors for environmental, chemical and biological detection” *Lab Chip*, **7**, 1238 (2007).
3. K. M. Goeders, J. S. Colton, L. A. Bottomley “Microcantilevers: sensing chemical interactions via mechanical motion” *Chem. Rev.*, **108**, 522 (2008).
4. T. Thundat, R. J. Warmack, G. Y. Chen, D. P. Allison “Thermal and ambient-induced deflections of scanning force microscope cantilevers” *Appl. Phys. Lett.*, **64**, 2894 (1994).
5. J. Fritz, M. K. Baller, H. P. Lang, H. Rothuizen, P. Vettiger, E. Meyer, H. -J. Güntherodt, Ch. Gerber, and J. K. Gimzewski “Translating Biomolecular Recognition into Nanomechanics” *Science* **288**, 316 (2000).
6. K. Jensen, K. Kim, A. Zettl “An atomic – resolution nanomechanical mass sensor” *Nature Nanotechnol.* **3**, 533 (2008).
7. D. Ramos, J. Tamayo, J. Mertens, M. Calleja, L. G. Villanueva, A. Zaballos “Detection of bacteria based on the thermomechanical noise of a nanomechanical resonator: origin of the response and detection limits” *Nanotechnology* **19**, 035503 (2008).
8. D. Ramos, J. Tamayo, J. Mertens, M. Calleja, A. Zaballos “Origin of the response of nanomechanical resonator to bacteria adsorption” *J. Appl. Phys.* **100**, 106105 (2006).
9. J. Tamayo, D. Ramos, J. Mertens, M. Calleja “Effect of the adsorbate stiffness on the resonance response of microcantilever sensors” *Appl. Phys. Lett.* **89**, 224104 (2006).
10. J. W. M. Chon, P. Mulvaney, J. E. Sader “Experimental validation of theoretical models for atomic force microscope cantilever beams immersed in fluids” *J. Appl. Phys.* **87**, 3978 (2000).
11. G. – Y. Huang, W. Gao, S. – W. Yu “Model for the adsorption – induced change in resonance frequency of a cantilever” *Appl. Phys. Lett.* **89**, 043506 (2006).
12. M. E. Gurtin, X. Markenscoff, R. N. Thurston “Effect of surface stress on the natural frequency of thin crystals” *Appl. Phys. Lett.* **29**, 529 (1976).
13. A. W. McFarland, M. A. Poggi, M. J. Doyle, L. A. Bottomley, J. S. Colton “Influence of the surface stress on the resonance behaviour of microcantilevers” *Appl. Phys. Lett.* **87**, 053505 (2005).

14. P. Lu, H. P. Lee, C. Lu, S. J. O'Shea "Surface stress effects on the resonance properties of cantilever sensors" *Phys. Rev. B* **72**, 085405 (2005).
15. M. J. Lachut, J. E. Sader "Effect of Surface Stress on the Stiffness of Cantilever Plates" *Phys. Rev. Lett.* **99**, 206102 (2007).
16. Z. P. Bazant, L. Cedolin "Stability of structures: Elastic, Inelastic, Fracture and Damage Theories" Dover Publications, Dover (2003).
17. J. Mertens, M. Álvarez, J. Tamayo "Real-time profile of microcantilevers for sensing applications" *Appl. Phys. Lett.* **87**, 234102 (2005).
18. E. du Trémolet de Lacheisserie "Magnetostriction : Theory and Applications of Magnetoelasticity" CRC Press, Inc. Boca Raton (1993).
19. I. Fernández-Martínez, M.S. Martín-González, R. González-Arrabal, R. Álvarez-Sánchez, F. Briones and J.L. Costa-Krämer "Nitrided FeB amorphous thin films for magneto mechanical systems" *JMMM* **320**, 68 (2008).

Apéndice B

Modos Torsionales de Vibración de una Micropalanca

El presente apéndice está dedicado al estudio de los modos torsionales de vibración de una micropalanca. Comenzaremos el estudio con la deducción, de un modo sencillo, de la ecuación de movimiento de este tipo de modos de vibración. Después procederemos a resolver esta ecuación con y sin efectos de disipación de energía, lo que nos lleva a poder representar, de forma teórica, los picos de resonancia torsionales de una micropalanca. Este tipo de modos es interesante porque, a igualdad de condiciones, y salvo peculiaridades geométricas, como por ejemplo una palanca cuya anchura sea comparable a su longitud, presentan una frecuencia de resonancia más alta que sus homólogos flexurales, además de un factor de calidad más elevado. Además, tal y como veremos las frecuencias de resonancia de este tipo de modos están equiespaciadas, cosa que no ocurre en los flexurales, y tienen factores de calidad proporcionales entre si.

B.1. INTRODUCCIÓN

Tal y como hemos visto a lo largo del desarrollo de la presente tesis doctoral, y en especial en el capítulo 5, los modos de vibración torsionales presentan una serie de características que los hacen muy interesantes desde el punto de vista de un sensor en modo dinámico. Para el tipo de geometrías que presentan habitualmente en las palancas utilizadas como sensores, los modos torsionales vibran a una frecuencia de resonancia más alta que sus homólogos flexurales y, además, tienen un factor de calidad más elevado. Sin embargo, es difícil encontrar en la literatura artículos que hagan uso de estos modos. Esto se debe, en parte, a la dificultad que existe en la interpretación de la ecuación de movimiento de este tipo de vibración, ya que, como veremos en este apéndice, se aleja de la “intuitiva” ecuación de Euler-Bernoulli.

B.2. ECUACIÓN DE MOVIMIENTO

A continuación se va a proceder a detallar la deducción de la ecuación de movimiento de los modos torsionales de vibración de una palanca de sección rectangular. En este caso no podemos utilizar la deflexión como variable dependiente, sino que debemos recurrir al ángulo de torsión.

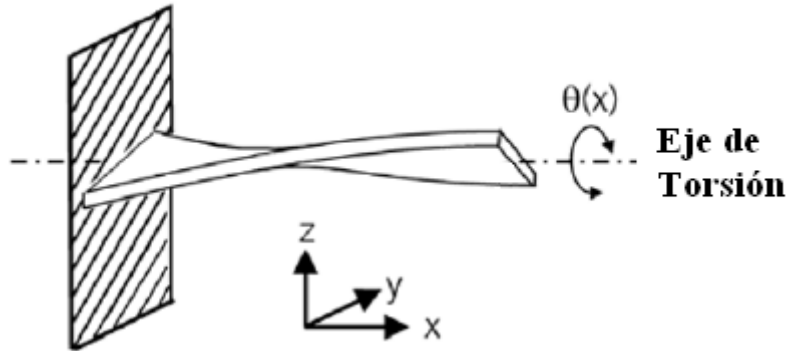


Figura B.1. Dibujo esquemático del primer modo torsional de vibración de una palanca junto con el eje de coordenadas utilizado

Utilizando el ángulo de torsión como coordenada, figura B.1, y suponiendo que dicho ángulo es pequeño, el desplazamiento horizontal se puede aproximar por la siguiente expresión

$$U \approx z\theta \quad (B.1)$$

donde z es la coordenada en el eje vertical de desplazamiento. Por tanto, la deformación en dicho plano será igual a

$$\varepsilon_{yz} = z \frac{\partial \theta}{\partial x} \quad (B.2)$$

A partir de esta expresión calculamos el stress torsional como

$$\sigma = G \frac{\partial U}{\partial x} = Gz \frac{\partial \theta}{\partial x} \quad (\text{B.3})$$

donde G es el módulo de cizalla de la palanca. El momento de torsión a partir del stress se calcula integrando en el eje de deflexión, por tanto,

$$M = \int_{-T/2}^{T/2} \sigma \cdot z dz = G \frac{\partial \theta}{\partial x} \int_{-T/2}^{T/2} z^2 dz = G \frac{1}{3} WT^3 \frac{\partial \theta}{\partial x} = D^T \frac{\partial \theta}{\partial x}$$

donde D^T es la rigidez torsional que se define como

$$D^T = \frac{1}{3} WT^3 G \quad (\text{B.4})$$

Nótese la analogía existente entre la definición de la rigidez flexural y torsional. Recordemos que la rigidez flexural se define como el módulo de Young multiplicado por el momento de inercia de la palanca con respecto a un eje perpendicular que pasa por uno de sus extremos. Mientras que la rigidez torsional es el módulo de cizalla (que sustituye al módulo de Young) multiplicado por el momento de inercia de la palanca esta vez con respecto a un eje perpendicular que pasa por el centro. Sin embargo, la expresión B.4 no es más que un cálculo aproximado de la rigidez torsional, válido para palancas cuyo espesor, T , es mucho más pequeño que su anchura, W , tal y como sucede en nuestro caso particular. Un cálculo mucho más detallado basado en elementos finitos [1] ofrece una corrección que puede no ser despreciable en determinadas geometrías,

$$D^T \approx \frac{1}{3} WT^3 G \left[1.0 - 0.630 \frac{T}{W} + 0.052 \left(\frac{T}{W} \right)^5 \right]$$

Para concluir con la derivación de la ecuación de movimiento de los modos torsionales debemos contabilizar todas las fuerzas verticales que actúan sobre la palanca,

$$S = \rho J \frac{\partial^2 \theta}{\partial t^2} \quad (\text{B.5})$$

donde J es el momento polar de inercia, definido a partir de la siguiente expresión [2]

$$J = \frac{1}{12} (W^3 T + WT^3) \quad (\text{B.6})$$

Haciendo uso de la relación entre fuerza y momento $S = -\frac{\partial M}{\partial y}$ llegamos a la siguiente ecuación de movimiento [3-5]

$$D^T \frac{\partial^2 \theta}{\partial x^2} = \rho J \frac{\partial^2 \theta}{\partial t^2} \quad (\text{B.7})$$

Podemos introducir dentro de la ecuación B.7 el efecto del rozamiento viscoso de la palanca con el aire simplemente añadiendo un término

$$D^T \frac{\partial^2 \theta}{\partial x^2} = \rho J \frac{\partial^2 \theta}{\partial t^2} + \gamma_{\text{Aire}} \frac{\partial \theta}{\partial t} \quad (\text{B.8})$$

B.3. SOLUCIONES DE LA ECUACIÓN DE MOVIMIENTO

En este caso las condiciones de contorno que tenemos que imponer son diferentes a las del caso de los modos flexurales de vibración [6]. Para una palanca de sección rectangular con un extremo fijo las condiciones de contorno que debemos imponer son las siguientes

$$\theta(x)|_{x=0} = \theta_0 \quad (\text{B.9})$$

$$D^T \frac{\partial \theta(x)}{\partial x} \Big|_{x=L} = 0 \quad (\text{B.10})$$

Resolveremos la ecuación B.8 buscando soluciones armónicas con la siguiente forma general

$$\theta(x, t) = A_0 e^{i(kx - \omega t)} \quad (\text{B.11})$$

donde A_0 es una constante y ω es la frecuencia angular de vibración. Introduciendo la expresión B.11 en la ecuación B.8 llegamos a la expresión del vector de onda complejo modificado por la constante de rozamiento

$$kL = \sqrt{\omega^2 L^2 \frac{\rho J}{D^T} - i \omega \frac{\gamma_{\text{Aire}} L^2}{D^T}}$$

Para una palanca de sección transversal rectangular esta relación de dispersión se puede escribir, utilizando las definiciones B.4 y B.6, como

$$k = \sqrt{\omega^2 \frac{W^2 \rho}{4T^2 G} - i \omega \frac{3\gamma_{\text{Aire}}}{WT^3 G}} \quad (\text{B.12})$$

Omitiendo la dependencia temporal armónica de la solución B.11, la solución a la ecuación de movimiento B.8 se puede escribir como

$$\theta(x) = A \sin kx + B \cos kx \quad (\text{B.13})$$

donde A y B son constantes que se determinan a partir de las condiciones de contorno B.9 y B.10. La primera condición de contorno hace referencia al ángulo inicial impuesto

por una excitación en la base de la palanca y lleva a que $B = 0$. La segunda condición de contorno dice que la suma de todas las fuerzas laterales externas a la palanca es cero, esto es que estamos estudiando la vibración libre de la palanca.

Introduciendo la solución B.13 en la condición de contorno B.10 llegamos a la expresión de la amplitud de vibración torsional

$$\theta(x) = \theta_0 (\tan kL \sin kx + \cos kx) \quad (B.14)$$

La amplitud del ángulo de torsión, θ , en el extremo libre de la palanca, $x = L$, viene dada por

$$\theta(x = L) = \frac{\theta_0}{\cos kL} \quad (B.15)$$

Los polos de la ecuación B.11 representarán las frecuencias de resonancia del sistema. Esta condición nos lleva a una serie infinita de modos torsionales cuyos vectores de onda serán

$$k_n^T = \frac{2n-1}{2L} \pi \quad (B.16)$$

donde $n = 1, 2, 3, \dots$ es el índice del modo. Utilizando la relación de dispersión, ecuación B.12, podríamos llegar a expresar la amplitud de vibración forzada en función de la frecuencia.

En la figura B.2 representamos el primer modo torsional de vibración, ecuación B.14. Nótese que las unidades han sido normalizadas para mayor generalidad. Además, debemos tener en cuenta que la expresión B.14 da el ángulo de torsión en función de la posición sobre la palanca, no la amplitud de oscilación. Para llegar a la amplitud de oscilación, suponiendo que el ángulo de torsión es muy pequeño, no tendríamos más que multiplicar dicho ángulo por la mitad de la anchura de la palanca

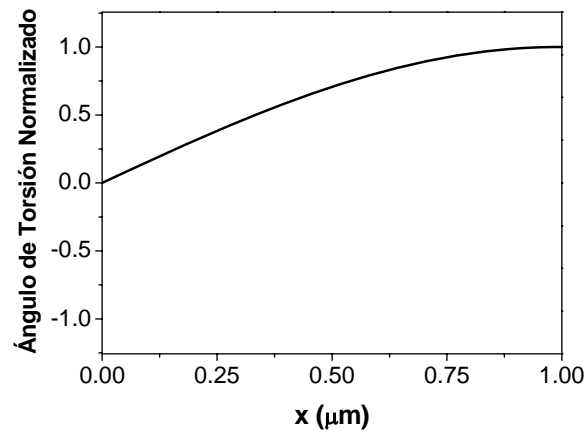


Figura B.2. Variación del ángulo de torsión a lo largo de la longitud de la palanca para el primer modo torsional de oscilación

Al igual que en el caso de la amplitud de oscilación del primer modo flexural, el comportamiento del ángulo de torsión para el primer modo torsional es monótono con respecto al eje longitudinal de la palanca. En la figura B.3 mostramos la variación del ángulo de torsión a lo largo de la palanca del segundo modo de torsional de oscilación.

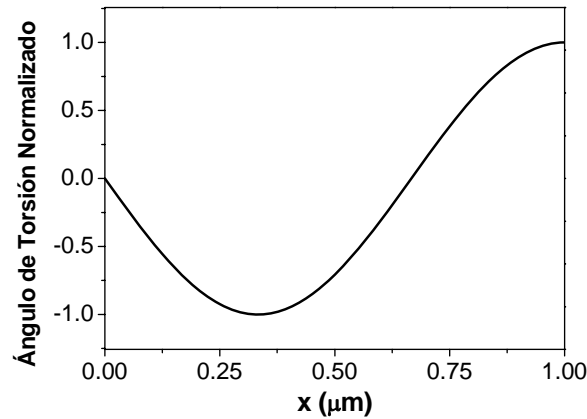


Figura B.3. Variación del ángulo de torsión a lo largo de la longitud de la palanca para el segundo modo torsional de oscilación

De nuevo el comportamiento es similar al del correspondiente modo flexural, aunque existe una mayor simetría en la altura de los máximos relativos de la función. En la figura B.4 mostramos el tercer modo torsional. De nuevo observamos una gran semejanza con el correspondiente modo flexural, sin embargo, al igual que sucedía en el segundo modo torsional, la posición de los nodos de oscilación, puntos en los que la palanca no vibra y que en este caso se corresponden con puntos cuyo ángulo de torsión es cero, es ligeramente diferente al de los modos flexurales.

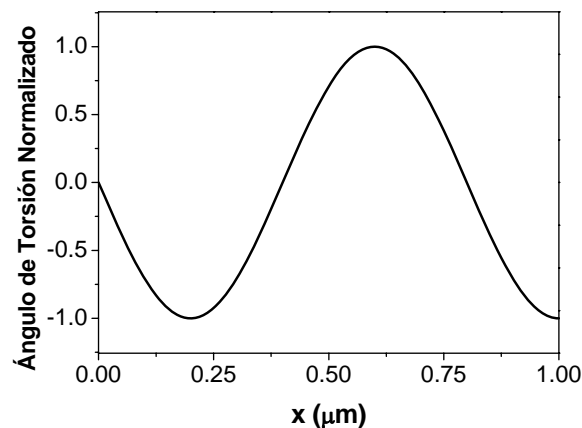


Figura B.4. Variación del ángulo de torsión a lo largo de la longitud de la palanca para el tercer modo torsional de oscilación

Tal y como se deduce de la expresión B.16 las frecuencias correspondientes a los modos torsionales de vibración están equiespaciadas. Recordemos que esto no sucedía en el caso de los modos flexurales, donde los diferentes autovalores vienen dados por $k_n^F = 1.875, 4.694, 7.855, 10.966, \dots$. Esto es debido a que en el caso de los

modos torsionales el vector de onda k_n^T es proporcional a la frecuencia angular si no tenemos en cuenta el efecto del rozamiento sobre la palanca.

B.4. EFECTOS DISIPATIVOS

Recordemos que el factor de calidad, Q , se puede definir como la relación entre la energía almacenada y perdida por ciclo de oscilación. Otra posible manera de definirlo a partir de su espectro de frecuencias es la relación entre la frecuencia de resonancia, ω_0 , y la anchura a mitad de altura del pico, $\Delta\omega_{FWHM}$

$$Q = \frac{\omega_0}{\Delta\omega_{FWHM}} \quad (B.17)$$

Experimentalmente se encuentra que los modos torsionales presentan un factor de calidad mucho más elevado que los correspondientes modos flexurales [7], lo que les ha llevado a ser considerados como serios candidatos a aumentar la sensibilidad de sensores para cambios de masa [8]. Por tanto, para las aplicaciones que vamos a llevar a cabo a lo largo de la presente tesis doctoral, el rozamiento debido al aire apenas afecta al ruido térmico de las palancas, es decir, la alteración que introduce el rozamiento con el aire en la frecuencia de resonancia de las palancas cuando las excitamos es despreciable. Podemos entonces calcular la frecuencia de resonancia de las palancas sin tener en cuenta los términos relativos al rozamiento

$$\omega = 2\pi \frac{2n-1}{4L} \sqrt{\frac{D^T}{\rho J}} = \pi \frac{2n-1}{L} \frac{T}{W} \sqrt{\frac{G}{\rho}} \quad (B.18)$$

Para una constante de rozamiento viscoso pequeña, la ecuación B.12 se simplifica

$$kL \approx L \sqrt{\frac{\rho J}{D^T}} \left(\omega - \frac{1}{2} i \frac{\gamma_{Aire}}{\rho J} \right) \quad (B.19)$$

Introduciendo la expresión B.19 en B.15, y expandiendo las componentes real e imaginaria en torno a la frecuencia de resonancia llegamos a una expresión aproximada de la amplitud del ángulo de torsión en el extremo libre

$$|\theta(x=L)| \approx \theta_0 \left[\left(L \sqrt{\frac{\rho J}{D^T}} \omega - \frac{2n-1}{2} \pi \right)^2 + \left(\frac{1}{2} \frac{\gamma_{Aire} L}{\sqrt{\rho J D^T}} \right)^2 \right]^{-1/2} \quad (B.20)$$

Por tanto, el máximo de la curva de resonancia será aproximadamente igual a

$$|\theta(x=L)|_{\max} \approx \frac{2\theta_0 \sqrt{\rho J D^T}}{L \gamma_{Aire}} \quad (B.21)$$

La anchura a mitad de altura de la curva se puede calcular como

$$\Delta\omega_{FWHM} = |\omega_2 - \omega_1|$$

donde ω_1 y ω_2 se corresponden con las frecuencias cuya abscisa, amplitud de oscilación, se encuentra a mitad de altura de la amplitud máxima. En la aproximación de que la constante de rozamiento es pequeña, podemos considerar que ambas coordenadas son simétricas respecto a la frecuencia de resonancia. Llegamos entonces a que

$$|\theta(\omega_1, x = L)| = |\theta(\omega_2, x = L)| = \frac{|\theta(x = L)|_{\max}}{\sqrt{2}}$$

Utilizando las expresiones B.20 y B.21 tenemos que

$$\omega_1 \approx \frac{2n-1}{2L} \pi \sqrt{\frac{D^T}{\rho J}} + \frac{\gamma_{Aire}}{2\rho J}$$

$$\omega_2 \approx \frac{2n-1}{2L} \pi \sqrt{\frac{D^T}{\rho J}} - \frac{\gamma_{Aire}}{2\rho J}$$

Y el factor de calidad será entonces

$$Q = \omega \frac{\rho J}{\gamma_{Aire}} \quad (B.22)$$

Cabe destacar en este punto que la anchura a mitad de altura de la curva de resonancia es la misma para todos los modos torsionales siempre que consideremos que la constante de rozamiento viscoso γ_{Aire} es independiente de la frecuencia. Tal y como se puede apreciar en la ecuación B.22, teniendo en cuenta que las frecuencias de resonancia están equiespaciadas, el factor de calidad será proporcional al índice de cada modo. En la figura B.5 se recoge una simulación teórica que muestra los primeros 4 modos torsionales de oscilación.

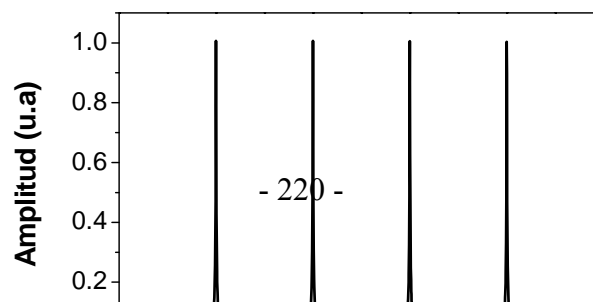


Figura B.5. Simulación teórica de los cuatro primeros modos torsionales de oscilación de una palanca.

Tal y como se puede apreciar en la figura anterior, las frecuencias de resonancia de los diferentes modos están equiespaciadas. Además, como el factor de calidad es proporcional al modo de oscilación, los picos parecen iguales unos de otros, en clara oposición al caso de los modos flexurales, figura 2.4.

En la figura B.6 mostramos la fase de las oscilaciones libres de los modos mostrados en la figura B.5. Tal y como se puede ver en esta simulación, los cambios de fase están equiespaciados y los saltos son regulares.

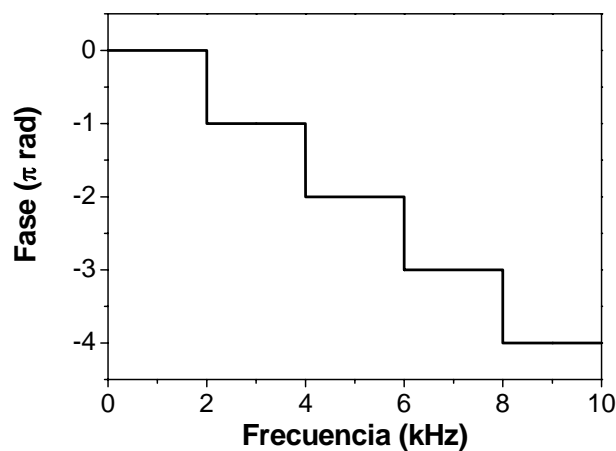


Figura B.6. Simulación teórica de la fase de las oscilaciones libres correspondientes a los modos torsionales de una palanca.

REFERENCIAS

1. C. T. F. Ross “Finite Element Programs for Structural Vibrations” Ed. Springer, London (1991).
2. Y. Song, B. Bhushan “Dynamic analysis of torsional resonance mode of atomic force microscopy and its application to in – plane surface property extraction” *Microsyst Technol.* **12**, 219 (2006).
3. K. Yamanaka, S. Nakano “Quantitative elasticity evaluation by contact resonance in an atomic force microscope” *Appl. Phys. A* **66**, 312 (1998).
4. V. Scherer, W. Arnold, B. Bhushan “Lateral force microscopy using acoustic friction force microscopy” *Surf. Interface Anal.* **27**, 578 (1999).
5. W. Weaver, S. P. Timoshenko, D. H. Young “Vibration Problems in Engineering” Ed. Wiley, New York (1990).
6. M. Reinstädler, T. Kasai, U. Rabe, B. Bhushan, W. Arnold “Imaging and Measurement of elasticity and friction using the TRmode” *J. Phys. D: Appl. Phys.* **38**, R269 (2005).
7. J. A. Turner, J. s. Wiehn “Sensitivity of flexural and torsional vibrations modes of atomic force microscope cantilevers to surface stiffness variations” *Nanotechnology* **12**, 322 (2001).
8. L. B. Sharos, A. Raman, S. Crittenden R. Reifenberger “Enhanced mass sensing using torsional and lateral resonances in microcantilevers” *Appl. Phys. Lett.* **84**, 4638 (2004).

Apéndice C

Estudio del Origen de la Curvatura de una Micropalanca debido a un Cambio de Temperatura

El presente apéndice está dedicado al estudio del momento de curvatura inducido en una micropalanca debido al cambio en la temperatura externa. Para ello la micropalanca debe estar compuesta por dos materiales diferentes, en nuestro caso silicio y oro, con lo que el cambio en la temperatura externa induce una expansión térmica distinta en cada capa, curvando la micropalanca.

En el presente estudio vemos, tanto teórica como experimentalmente, que el modelo que se utiliza normalmente para calcular la curvatura de las palancas, el modelo de Stoney, es insuficiente para explicar el cambio en el perfil de la palanca observado. Debemos incluir, por tanto, otra fuerza en el eje de la micropalanca, lo que se manifiesta de forma apreciable cuando el cambio en la temperatura es del orden de una decena de grados centígrados.

C.1. INTRODUCCIÓN

La gran sensibilidad de las micropalancas utilizadas en el microscopio de fuerzas atómicas con en relación al cambio de temperatura es un hecho que se conoce desde hace mucho tiempo en la literatura [1]. Las micropalancas compuestas de dos capas de materiales diferentes se han venido utilizando en numerosas aplicaciones que tienen en cuenta su gran sensibilidad a los cambios de temperatura, así como a la posibilidad de la reducción del tamaño, lo que revierte en una alta paralelizabilidad, mejorando la sensibilidad y la resolución espacial de las medidas [2]. Dentro de estas aplicaciones se incluyen la calorimetría resuelta en el espacio [3 – 7], resonancia ferromagnética [8], almacenamiento de datos a través de sondas termomecánicas [9,10], nanolitografía [11,14] y actuadores térmicos [15 – 17].

Se ha demostrado que las micropalancas de silicio con una fina capa de oro sobre uno de sus lados presentan una deflexión medible en respuesta a un cambio de temperatura. Este fenómeno se denomina comúnmente como “efecto bimetalico”. En este caso particular, la tensión diferencial en la palanca se genera debido a una expansión térmica diferente en cada una de las capas, silicio y oro, debido a que, al ser materiales diferentes, presentan coeficientes de expansión térmica distintos. Mediante este tipo de medidas, se estima que el límite de la medida de intercambio de calor que puede ser detectado estará en el rango de los femtojulios [18].

A pesar que hay publicaciones previas en el campo de la micromecánica que describen el efecto bimetalico [19,20], la derivación de la deformación inducida por el cambio de temperatura para una palanca con uno de sus extremos fijo por un lado todavía queda incompleta. Más aún, el origen de la fuerza generada en este tipo de estructuras raramente se discute en la literatura. En el presente apéndice vamos a derivar una expresión para la deflexión del extremo libre de la palanca y la fuerza que lo origina en función del cambio de temperatura.

C.2. MODELO TEÓRICO

Tal y como se ha comentado a lo largo de la presente tesis, existen diferentes modelos para describir la deflexión de la palanca. Sin duda el más conocido de todos, y el más utilizado es el modelo de Stoney, que describe la tensión diferencial generada como un momento concentrado en el extremo libre de la palanca, fig. C.1a. Por tanto, la ecuación de movimiento que describe la deflexión de la palanca se puede escribir como [21,22]

$$EI \frac{d^2 v(x)_{Stoney}}{dx^2} = M \quad (C.1)$$

donde x es la coordenada espacial a lo largo de la longitud de la palanca, $v(x)$ es el desplazamiento vertical de cada punto de la palanca, E es el módulo de Young, I es el momento de inercia de la palanca respecto a un eje perpendicular a la misma que pasa por uno de sus extremos y M es el momento aplicado.

Para resolver esta ecuación de movimiento tenemos que tener en cuenta las siguientes condiciones de contorno

$$v(x=0)=0 \quad (C.2)$$

$$\frac{dv}{dx}(x=0)=0 \quad (C.3)$$

Aplicando las condiciones de contorno C.2 y C.3 a la ecuación C.1, tenemos que la solución que da el modelo de Stoney es un perfil parabólico

$$v(x)_{Stoney} = \frac{Mx^2}{2EI} \quad (C.4)$$

Para una palanca rectangular tenemos que el momento de inercia con respecto al eje perpendicular que pasa por uno de sus extremos es

$$I = \frac{1}{12}WT^3$$

donde W es la anchura de la palanca y T su espesor. El momento aplicado es consecuencia de la tensión diferencial entre los dos lados de la palanca, por tanto

$$M = W \int_{-T/2}^{+T/2} \Delta\sigma z dz = W \int_{-T/2}^{+T/2} \left[\sigma^+ \delta\left(z - \frac{T}{2}\right) + \sigma^- \delta\left(z + \frac{T}{2}\right) \right] z dz = \frac{1}{2}\sigma WT$$

donde $\Delta\sigma$ representa la tensión diferencial entre las dos superficies de la palanca, que hemos simplificado como una tensión superficial en la cara superior, σ^+ , y otro en la inferior, σ^- . Para simplificar a continuación llamaremos $\sigma = \sigma^+ - \sigma^-$. Por tanto, para una palanca cuya sección es rectangular, tenemos que la curva de deflexión se puede escribir como

$$v(x)_{Stoney} = \frac{3\sigma}{ET^2} x^2 \quad (C.5)$$

Expresión que se conoce habitualmente como fórmula de Stoney. Para una palanca compuesta por dos capas de materiales diferentes hemos visto que podemos calcular una rigidez de la palanca efectiva, sin embargo, también podemos calcular un módulo de Young efectivo [24], que vendrá dado por la siguiente expresión

$$E_{eff} = \frac{E_f^2 \left(\frac{T_f}{T}\right)^4 + E_s^2 \left(\frac{T_s}{T}\right)^4 + 2E_f E_s \frac{T_f}{T} \frac{T_s}{T} \left(2\left(\frac{T_f}{T}\right)^2 + 2\left(\frac{T_s}{T}\right)^2 + 3\frac{T_f}{T} \frac{T_s}{T} \right)}{E_f \frac{T_f}{T} + E_s \frac{T_s}{T}} \quad (C.6)$$

donde los subíndices f y s hacen referencia a la capa delgada de metal y el sustrato de la palanca respectivamente, y $T = T_s + T_f$ es el espesor total de la palanca, suma de los espesores de las dos capas. Para el caso en el que $T_f \ll T_s$, la tensión superficial generado por el cambio de temperatura se puede aproximar por [25]

$$\sigma = E_f (\alpha_s - \alpha_f) \left(\frac{1 + \frac{E_f T_f^3}{E_s T_s^3}}{1 + \frac{T_f}{T_s}} \right) \Delta T \quad (C.7)$$

donde α_i son los diferentes coeficientes de expansión térmica del sustrato y la capa metálica delgada y ΔT es la variación de temperatura externa. En las aplicaciones más usuales en las que la palanca se utiliza como sensor, la tensión superficial se deduce a partir de la medida del desplazamiento vertical del extremo libre de la palanca. De tal forma que, substituyendo las expresiones C.6 y C.7 en la curva de deflexión C.5 y fijando el extremo libre en la coordenada x obtenemos una dependencia lineal de la deflexión del extremo libre con la temperatura

$$v(x=L)_{Stoney} = \frac{3L^2}{E_{eff} T^2} E_f (\alpha_s - \alpha_f) \left(\frac{1 + \frac{E_f T_f^3}{E_s T_s^3}}{1 + \frac{T_f}{T_s}} \right) \Delta T \quad (C.8)$$

En este caso, la dependencia del módulo de Young de los materiales que conforman la palanca con la temperatura se ha despreciado debido a que dichos cambios son muy pequeños dentro de los límites de variación de temperatura que se aplican comúnmente.

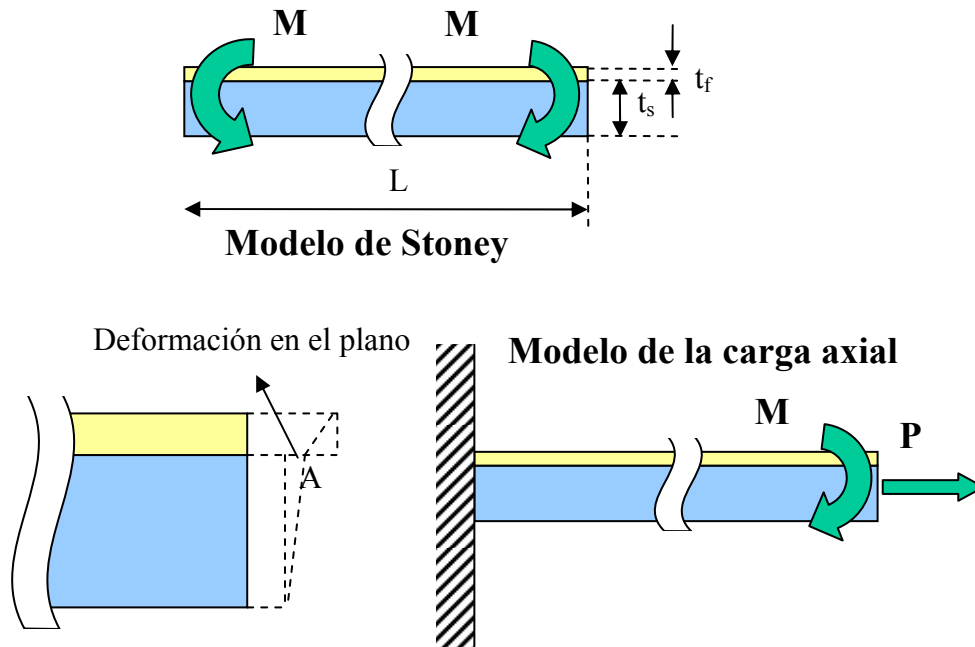


Figura C.1. (a) Esquema del modelo de Stoney para la deformación de una placa cuyos extremos son libres por ambos lados. La deformación viene a partir del momento aplicado en los extremos de la placa. (b) Modelo de la carga axial. Se añade una componente de carga axial para tener en cuenta el efecto del extremo libre. (c) Deformación inducida por la fuerza generada en la expansión de las dos capas

Sin embargo, estudios recientes [25,26] señalan la necesidad de incluir una carga axial a la palanca con el fin de completar la descripción de la dinámica de deflexión. Esta aproximación, descrita en la figura C.1b, nos lleva a considerar un esquema de cargas sobre la palanca completamente diferente al propuesto por Stoney, fig. C.1a, que originará una deformación del sistema completamente distinta.

Como se ha discutido anteriormente, cuando la temperatura cambia, los diferentes coeficientes de expansión térmica y de módulo de Young de los materiales que componen la palanca producen una deformación lineal de ambas capas. Como las dos capas están pegadas, la línea que está situada en la intercara debe alcanzar una posición intermedia, punto A en la figura C.1c, entre el punto de máxima deformación de la capa metálica y del material de la palanca, causando una deformación en el plano. Podemos atribuir el origen físico de esta deformación a una carga axial en la palanca, que hemos llamado P en la figura.

Por tanto, la ecuación que describe la deformación de la palanca, ecuación C.1, se tiene que cambiar para albergar esta nueva fuerza que actúa en la palanca. La nueva ecuación que describe la deformación quedaría entonces de la siguiente manera

$$EI \frac{d^4 v(x)_{Axial}}{dx^4} - P \frac{d^2 v(x)_{Axial}}{dx^2} = 0 \quad (C.9)$$

donde la carga axial depende de la geometría de la palanca [26], $P = W \sigma$. La ecuación C.9 se puede resolver de manera analítica teniendo en cuenta de nuevo las mismas condiciones de contorno C.2 y C.3 que utilizamos anteriormente, con lo que tenemos

$$v(x)_{Axial} = \frac{T}{2L \cosh\left(\frac{W\sigma(\Delta T)}{E_{eff} I} L\right)} \left[\cosh\left(\frac{W\sigma(\Delta T)}{E_{eff} I} x\right) - 1 \right] \quad (C.10)$$

De nuevo calcularemos la deflexión del extremo libre de la palanca en función del cambio de temperatura,

$$v(x=L)_{Axial} = \frac{T}{2L} \left[1 - \frac{1}{\cosh\left(\frac{W\sigma(\Delta T)}{E_{eff} I} L\right)} \right] \quad (C.11)$$

Tal y como podemos comprobar viendo la ecuación C.11, en este nuevo escenario de cargas sobre la palanca, la dependencia de la deflexión del extremo libre de la palanca con la temperatura no es lineal como predecía el modelo de Stoney, ecuación C.8.

C.3. RESULTADOS EXPERIMENTALES

Las micropalancas utilizadas en estos experimentos son comerciales (MikroMash), de sección rectangular. Sus dimensiones nominales son 400 μm de longitud, 100 μm de anchura y 1 μm de espesor. El material en el que están hechas estas palancas es silicio monocristalino, y son suministradas sin ningún tipo de recubrimiento. Para depositar la capa metálica recurrimos a una evaporación térmica, con una presión de la cámara de 10^{-5}Pa y una velocidad de deposición de 0.2nm s^{-1} . Con el fin de mejorar la adhesión de la capa de oro, de 20nm de espesor, se deposita una capa intermedia de cromo de 2nm.

El chip que contiene las palancas se aloja en una celda que se introduce en una cámara de vacío. Éste es un vacío medio, que se alcanza mediante una bomba turbomolecular en apenas diez minutos. Para mantener una presión de gas determinada se utilizan diferentes válvulas de control.

Debajo de la celda se coloca un termistor de tipo Peltier que puede enfriar o calentar toda la celda en un rango de temperaturas comprendido entre los 223K y los 373K. La temperatura dentro de la celda se controla mediante un controlador de temperatura (Newport™ Modelo 325) con una precisión inferior al 0.1%. Este dispositivo controlador de la temperatura asegura un mantenimiento de la temperatura ultra – estable dentro del rango determinado ($\pm 0.001^\circ\text{C}$), para ello entrega una potencia de salida al termistor de 17.5W. El control de la temperatura se realiza mediante un ciclo de realimentación que utiliza la lectura de una sonda externa de temperatura como entrada del sistema.

La deflexión de la palanca se mide con un sistema de perfilometría óptica [27], descrito en la sección 3.5.1 de la Introducción. Tal y como explicamos en su momento, esta técnica de lectura combina el método de la deflexión de haz y un escaneado bidimensional automatizado de un haz láser mediante el uso de bobinas magnéticas, figura C.2. Utilizamos un láser de diodo rojo (635nm, Edmund Optics Ltd.) montado sobre una plataforma que permite un movimiento sin histéresis mecánica en un rango de varios milímetros con una velocidad máxima de 50mm s^{-1} y con una precisión de 100nm. El haz láser se enfoca sobre la palanca y el reflejo se recoge mediante un fotodiodo sensible a la posición (PSD). El perfil de la palanca se deduce del escaneado de la misma en un eje paralelo a su longitud.

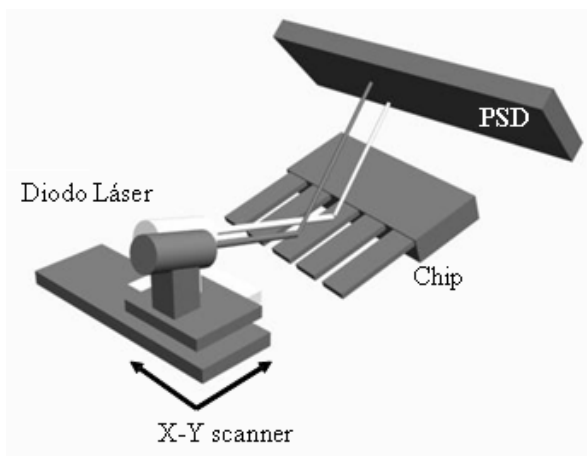


Figura C.2. Esquema del sistema de perfilometría óptica. El láser se monta sobre un scanner bidimensional. El haz de luz puede barrer en las dos direcciones. El spot reflejado se recoge con un fotodiodo sensible a la posición

La figura C.3 muestra los perfiles resultantes medidos con una presión en la cámara de 10^{-2} Pa para dos cambios de temperatura diferentes: $\Delta T = 0$ K y $\Delta T = -12$ K. Nótese que nos referimos a cambios de temperatura, de acuerdo con nuestras condiciones iniciales del experimento, $\Delta T = 0$ K se corresponde con una temperatura ambiente de la palanca de 298K. La velocidad de escaneado sobre la palanca se fijó a 1 mm s^{-1} , siendo la precisión sobre el eje longitudinal de la palanca de 100nm. Mediante el uso de esta técnica, el extremo libre se determina midiendo la posición donde la intensidad total de luz recogida en el PSD cae hasta la mitad. Al decrecer la temperatura, la palanca se desplaza hacia arriba, hacia el lado de la capa metálica. Este desplazamiento proviene de la tensión diferencial que se puede entender como una compresión de la capa de oro debido a la diferencia entre los coeficientes de expansión térmica de las dos capas.

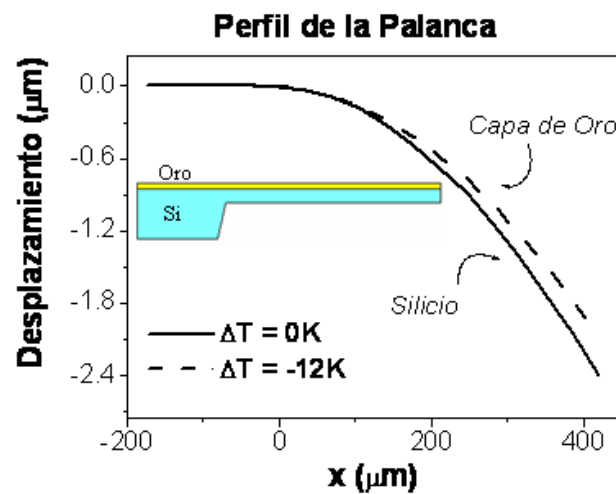


Figura C.3. Perfiles de la palanca para $\Delta T = 0$ K y $\Delta T = -12$ K. La palanca se dobla hacia arriba cuando la temperatura decrece. Se ha incluido un pequeño esquema describiendo la composición de la palanca que relaciona el signo de la curvatura con la orientación de las dos capas de la palanca

Los datos obtenidos a partir de esta técnica de perfilometría permiten observar la forma de la palanca y medir de forma exacta la deformación inducida por el cambio de temperatura ΔT . La deflexión del extremo libre se mide fijándonos únicamente en el movimiento del último punto de la palanca. Con el fin de apreciar mejor la deformación producida en la palanca por el cambio de temperatura vamos a utilizar el perfil correspondiente a $\Delta T = 0$ K como referencia restándole del perfil de $\Delta T = -12$ K, figura C.4. Tal y como era de esperar, el desplazamiento máximo se encuentra localizado en el extremo libre y es igual a 530nm.

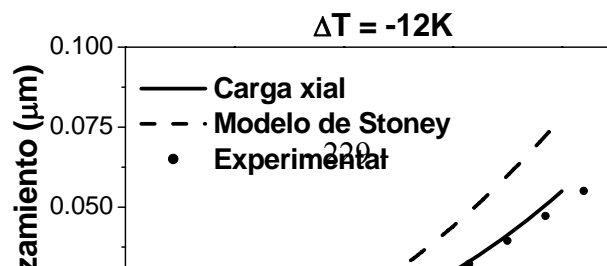


Figura C.4. Deformación de la palanca descrita mediante el modelo de Stoney (línea discontinua) y el modelo de la carga axial (línea continua) para $\Delta T = -12K$. Tal y como se puede apreciar el modelo de la carga axial no presenta un comportamiento parabólico como el modelo de Stoney. Los datos experimentales se ajustan al modelo de la carga axial dentro de un margen de error menor del 10%.

En la figura C.4 comparamos además los datos experimentales (símbolos), con los dos modelos presentados anteriormente, el modelo de Stoney, ecuación C.8, y el modelo que contempla la existencia de una fuerza axial, ecuación C.11. Tal y como se puede apreciar en esta figura, para el mismo cambio de temperatura el modelo de Stoney predice una deflexión de la palanca mayor que el modelo de la carga axial. Esta diferencia es una consecuencia directa del efecto de aplanamiento que tiene la carga axial, ya que, por el hecho de tener una fuerza hacia el exterior de la palanca, su curvatura es menor. Por tanto, para la misma deflexión del extremo libre, la tensión superficial derivada a partir del modelo de Stoney siempre es menor. De la misma forma, el modelo de la carga axial predice un perfil de la palanca completamente diferente al del modelo de Stoney, ya que la fuerza en el plano inducida por la deformación lleva consigo una componente lineal de la deformación que difiere del comportamiento parabólico de Stoney.

La figura C.5 muestra la deflexión del extremo libre de la palanca, δ , en función del cambio de temperatura ΔT a una presión de $10^{-2}Pa$. En estas medidas experimentales la temperatura se varía de forma gradual en un rango entre 235K y 315K. El efecto bimetalico muestra dos comportamientos diferentes en función del cambio de temperatura:

- Primera región, para $\Delta T < -30K$ y $\Delta T > 25K$. La deflexión del extremo libre de la palanca aumenta con la variación de temperatura, mientras que si utilizamos el modelo de Stoney para una palanca compuesta por dos capas con diferentes coeficientes de expansión térmica (línea discontinua) debería decrecer. Este comportamiento evidencia las diferencias existentes entre el modelo de comportamiento clásico y el modelo de la carga axial que, como se puede ver en la figura (línea continua) se ajusta mucho mejor.
- Segunda región, $-30K < \Delta T < 25K$. La deflexión del extremo libre, δ , decrece siguiendo una dependencia lineal con el cambio de temperatura correspondiente a $-43nm/K$. El modelo de Stoney predice una pendiente algo

mayor, -67nm/K , con lo que el modelo de Stoney en este caso tampoco es altamente preciso para un cambio de temperatura pequeño.

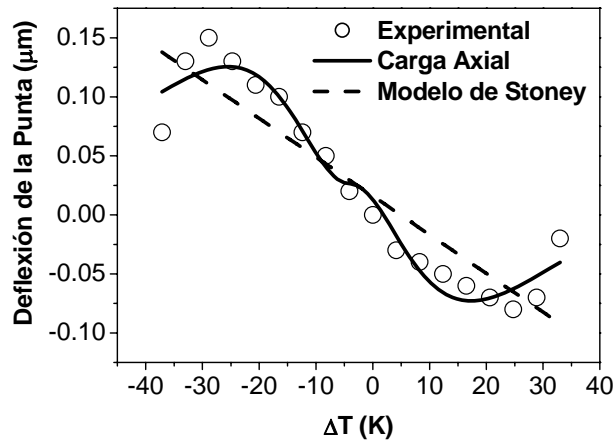


Figura C.5. Resultados experimentales de la deflexión del extremo libre en función del cambio de temperatura (símbolos). Se añaden los cálculos teóricos correspondientes al modelo de Stoney (línea discontinua) y al modelo de carga axial (línea continua). Para grandes cambios de temperatura el modelo de la carga axial es mucho más preciso.

La deformación en el plano de la intercara oro – silicio podría ser la explicación del comportamiento no lineal observado en la figura C.5. Tal y como hemos venido diciendo a lo largo del presente apéndice el origen estaría en la diferencia entre los coeficientes de expansión térmica de ambos materiales. Los parámetros que hemos utilizado para hacer esta simulación son los siguientes: $E_s = 169 \text{ GPa}$, $E_f = 79 \text{ GPa}$, $\alpha_s = 2.59 \cdot 10^{-6} \text{ K}^{-1}$, $\alpha_f = 14.2 \cdot 10^{-6} \text{ K}^{-1}$.

La palanca se dobla hasta el punto en el que la tensión inducida por el cambio de temperatura se hace igual a la carga axial inducida por la deformación en la intercara. Esta fuerza no puede considerarse meramente superficial como la tensión superficial, correspondiéndose con una fuerza en el volumen, ya que el cambio de temperatura afecta por igual a todo el espesor de la palanca. Aquí reside la diferencia más importante con la tensión superficial inducida por la adsorción biológica, que se genera en la superficie de la palanca.

C.4. CONCLUSIONES

En el presente Apéndice hemos estudiado el origen de la deflexión de la palanca causado por el efecto bimetalico. Este efecto se modela teóricamente teniendo en cuenta fuerzas involucradas en la expansión térmica de las dos capas de la palanca. Como se ha demostrado teóricamente, estas fuerzas son las responsables de una dependencia no lineal de la deflexión del extremo libre de la palanca con la variación de temperatura. Esta conclusión teórica ha sido comprobada experimentalmente con un alto grado de precisión. El resultado de este estudio podría ser generalizado a otras geometrías con el fin de mejorar el control de temperatura en estructuras basadas en palancas compuestas por dos, o más, materiales diferentes.

REFERENCIAS

1. J. Mertens, E. Finot, T. Thundat, A. Fabre, M. – H. Nadal, V. Eyraud, E. Bourillot “Effects of temperature and pressure on microcantilever resonance response” *Ultramicroscopy* **97**, 119 (2003).
2. W. P. King, S. Saxena, B. A. Nelson “Nanoscale thermal analysis of an energetic material” *Nano Lett.* **6**, 2145 (2006).
3. M. Nonnenmacher, H. K. Wickramasinghe “Scanning probe microscopy of thermal conductivity and subsurface properties” *Appl. Phys. Lett.* **61**, 168 (1992).
4. N. Abedinov, P. Grabiec, T. Gotszalk, Tz. Ivanov, J. Voigt, I. W. Rangelow “Micromachined piezoresistive cantilever array with integrated resistive microheater for calorimetry and mass detection” *J. Vac. Sci. Technol. A* **19**, 2884 (2001).
5. B. Gostmann, U. Durig “Thermally activated nanowear modes of a polymer surface induced by a heated tip” *Langmuir* **20**, 1495 (2004).
6. R. Berger, H. Lang, C. Gerber, J. Gimzewski, J. Fabian, L. Scandella, E. Meyer, H. Guntherodt “Micromechanical thermogravimetry” *Chem. Phys. Lett.* **294**, 363 (1998).
7. L. A. Pinnaduwa, A. Wig, D. L. Hedden, A. Gehl, D. Yi, T. Thundat, R. T. Lareau “Detection of trinitrotoluene via deflagration on a microlever” *J. Appl. Phys.* **95**, 5871 (2004).
8. T. M. Wallis, J. Moreland, B. Riddle, P. Kabos “Microwave power imaging with ferromagnetic calorimeter probes on biomaterial cantilevers” *J. Mag. Mat.* **286**, 320 (2005).
9. W. P. King, T. W. Kenny, K. E. Goodson, G. Cross, M. Despont, U. Durig, H. Rothuizen, G. K. Binnig, P. Vettiger “Atomic force microscope cantilevers for combined thermomechanical data writing and reading” *Appl. Phys. Lett.* **78**, 1300 (2001).
10. H. J. Mamin, L. S. Fan, D. Rugar, S. Hoen “Tip – based data storage using micromechanical cantilevers” *Sens. Act. A* **48**, 215 (1995).
11. D. A. Wang, J. Bullen, C. Zou, J. Liu, C. Mirkin “Thermally actuated probe array for parallel dip – pen nanolithography” *J. Vac. Sci. Technol. B* **22**, 2563 (2004).
12. B. Gostmann, U. Durig, J. Frommer, C. J. Hawker “Exploiting chemical switching in a Diels – Alder polymer for nanoscale probe lithography and data storage” *Adv. Funct. Mat.* **16**, 1499 (2006).
13. P. E. Sheehan, L. J. Whitman, W. P. King, B. A. Nelson “Nanoscale deposition of solid inks via thermal dip – pen nanolithography” *Appl. Phys. Lett.* **85**, 1589 (2004).
14. S. Nishimura, Y. Takemura, J. Shirakashi “SPM local oxidation nanolithography with active control of cantilevers dynamics” *J. Phys. Conf. Series* **61**, 1066 (2007).
15. T. Lalinsky, E. Burian, M. Drzik, S. Hascik, Z. Mozolova, J. Kuzmik, “Thermal actuation of a GaAs cantilever beam” *J. Micromech. Microeng.* **10**, 293 (2000).
16. A. V. Grigorov, Z. J. Davis, P. Rasmussen, A. Boisen “A longitudinal thermal actuation principle for mass detection using a resonant microcantilever in a fluid medium” *Microelectronic Engineering* **73**, 881 (2004).

17. T. Sulchek, S. C. Minne, J. D. Adams, D. A. Fletcher, A. Atalar, C. F. Quate, D. M. Adderton “Dual integrated actuators for extended range high speed atomic force microscopy” *Appl. Phys. Lett.* **75**, 1637 (1999).
18. J. R. Barnes, R. J. Stephenson, M. E. Welland, C. Gerber, J. K. Gimzewski “Photothermal spectroscopy with femtojoule sensitivity using a micromechanical device” *Nature* **372**, 79 (1994).
19. W. – H. Chu, M. Mehregany, R. L. Mullen “Analysis of tip deflection and cantilever force of a bimetallic cantilever microactuator” *J. Micromech. Microeng.* **3**, 4 (1993).
20. E. Shuir “Stresses in bi – metal thermostats” *J. Appl. Mech.* **53**, 657 (1986).
21. G. G. Stoney “The tension of metallic films deposited by electrolysis” *Proc. R. Soc. London Ser. A* **82**, 172 (1909).
22. S. Timoshenko “Analysis of bi – metal thermostats” *J. Opt. Soc. Am.* **11**, 233 (1925).
23. J. W. Yi, W. Y. Shih, W. – H. Shih “Effect of length, width, and mode on the mass detection sensitivity of piezoelectric unimorph cantilevers” *J. Appl. Phys.* **91**, 1680 (2002).
24. C. H. Hsueh “Modeling of elastic deformation of multilayers due to residual stresses and external bending” *J. Appl. Phys.* **91**, 9652 (2002).
25. A. W. MacFarland, M. A. Poggi, M. J. Doyle, L. A. Bottomley J. S. Colton “Influence of surface stress on the resonance behaviour of microcantilevers” *Appl. Phys. Lett.* **87**, 053505 (2005).
26. Y. Zhang, Y. – P. Zhao “Applicability range of Stoney’s formula and modified formulas for a film/substrate bilayer” *J. Appl. Phys.* **99**, 053513 (2006).
27. J. Mertens, M. Álvarez, J. Tamayo “Real – Time profile of microcantilevers for sensing applications” *Appl. Phys. Lett.* **87**, 2344102 (2005).

Apéndice D

Modelos de Tensión Superficial

En el presente apéndice comparamos tres modelos que tratan de simular la tensión superficial diferencial que se produce en una micropalanca cuando, por ejemplo, se inmoviliza una capa biológica sobre una de las caras de la misma. El primer modelo es el más extendido en la literatura: el modelo de Stoney, que simula la tensión superficial como un momento aplicado en el extremo libre de la micropalanca. El segundo modelo incluye una carga axial sobre el eje neutro de la palanca, es el modelo utilizado en el Apéndice C para calcular la curvatura inducida por el cambio en la temperatura exterior. El último modelo que se aborda es similar al anterior pero distribuido a lo largo de la palanca, es decir, sobre cada elemento infinitesimal de la palanca actúa un momento de curvatura y una carga axial.

Los tres modelos se comparan de dos formas diferentes, por un lado calculamos el cambio en el perfil de la palanca que originan, y por otro lado su curvatura. La aplicación de modelos para la tensión superficial más sofisticados que el modelo de Stoney permite la explicación de perfiles experimentales de la palanca observados cuando se produce la adsorción de una capa biológica, por ejemplo una molécula de mercaptohexanol sobre la micropalanca recubierta de oro.

D.1. INTRODUCCIÓN

En el presente Apéndice vamos a centrar nuestro estudio en los diferentes modelos teóricos analíticos que hay en la literatura que tratan de explicar el conjunto de fuerzas que actúan sobre la palanca y hacen que se doble. Pese a que los primeros estudios en este campo datan de 1909 [1], todavía no hay un consenso aceptado por todos en la comunidad científica. El problema radica en cómo modelizar el stress que se genera en la superficie de la palanca. Debemos darnos cuenta de que la tensión superficial escala linealmente con la dimensión [2], por tanto, hasta que no hemos alcanzado la escala micro- y nanométrica, donde la relación entre la superficie y el volumen se incrementa, no ha sido necesario un análisis detallado del problema [3].

Tal y como se describe en la literatura, la tensión superficial puede inducir un auto-ensamblado de microestructuras [2] o puede ser inducido a su vez por el auto-ensamblado de las mismas [4]. Tal y como hemos visto, los cambios en el stress superficial de la palanca que inducen la hibridación del ADN o la unión ligando-receptor inducen una deflexión en la palanca que se utiliza como sensor del mecanismo de reconocimiento molecular [5]. Tradicionalmente se estudian estos mecanismos mediante la fórmula de Stoney [1, 6, 7], que sirve de base para todos los análisis basados en la curvatura y que proporciona una técnica para medir la tensión superficial de la palanca [8, 9].

Detrás de la fórmula de Stoney se esconde la presunción de una curvatura uniforme a lo largo de toda la estructura deformada, haciendo un análisis lineal para pequeñas deflexiones. Para deflexiones mayores que el espesor de la palanca o de la lámina delgada la fórmula de Stoney no se ajusta con precisión a los resultados experimentales. Varios autores han propuesto modificaciones a la expresión general de Stoney que tienen en cuenta correcciones debidas a la relación entre el módulo de Young y el espesor de la capa que recubre a la palanca [10, 11]. Ambos estudios concluyen que la ecuación de Stoney permanece válida mientras que el espesor de la palanca sea mucho mayor que la capa que la recubre, es decir, en la aproximación de “película delgada”.

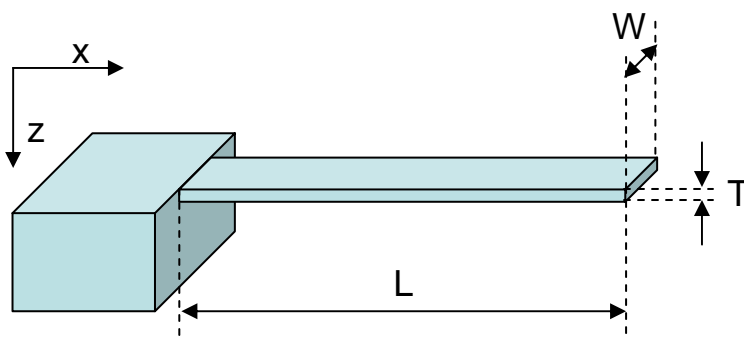


Figura D.1 Esquema de la palanca utilizada en los diferentes modelos teóricos de la tensión superficial.

D.2. MODELOS DE TENSIÓN SUPERFICIAL: MODELO DE STONEY

Comenzaremos nuestro análisis con el modelo más sencillo de la tensión superficial, el modelo de Stoney. La figura D.1 muestra el eje de coordenadas que vamos a utilizar a lo largo de toda la presente discusión. Nótese que aunque

denominamos a la tensión generada sobre la palanca “superficial”, como ha podido verse en diferentes puntos a lo largo de la presente tesis sus unidades son Newton/metro, no pascuales, como correspondería a una presión. El modelo de Stoney se simplifica en la figura D.2 que esquematiza la palanca sometida a una carga uniformemente distribuida por toda su superficie. Como podemos comprobar, esta carga uniforme es equivalente a una carga concentrada en el extremo libre de la palanca.

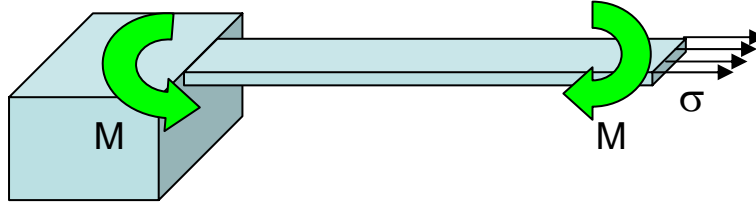


Figura D.2. Modelo de Stoney. La carga distribuida en la superficie de la palanca se modeliza como un momento concentrado en el extremo libre.

En este modelo la carga uniformemente distribuida en la superficie de la palanca se modeliza como un momento aplicado en el extremo libre. La ecuación que gobierna la deflexión es, por tanto [8],

$$E * I \frac{d^2 z}{dx^2} = M \quad (D.1)$$

Con las siguientes condiciones de contorno

$$z(0) = \frac{dz}{dx}(0) = 0 \quad (D.2)$$

donde I es el momento de inercia de una palanca de sección transversal rectangular y E^* es módulo de Young biaxial [10 – 12], que viene dado por $E^* = E/(1-\nu)$, siendo E el módulo de Young y ν el coeficiente de Poisson. Tal y como vimos en el apéndice C, el momento concentrado en el extremo se puede calcular como [6]

$$M = W \int_{-T/2}^{T/2} \sigma z dz = W \int_{-T/2}^{T/2} \sigma_0 \delta\left(z - \frac{T}{2}\right) z dz = \frac{1}{2} \sigma_0 W T$$

donde hemos supuesto que la tensión, σ_0 , está concentrado en la superficie superior de la palanca. Resolviendo la ecuación D.1 con las condiciones de contorno D.2 llegamos a la siguiente expresión para el perfil de una palanca cuya sección transversal es un rectángulo,

$$z(x) = \frac{M}{2E^* I} x^2 = \frac{3\sigma_0}{E^* T^2} x^2 \quad (D.3)$$

Tal y como se desprende de la ecuación D.3, el perfil que se obtiene a partir del modelo de Stoney es parabólico. La figura D.3 muestra el perfil de una palanca cuyas dimensiones se han normalizado para ganar en generalidad con un valor de $\sigma_0 = 1 \text{ N m}^{-1}$.

La deflexión también se ha normalizado a uno con el fin de poder comparar posteriormente la forma que adopta la palanca.

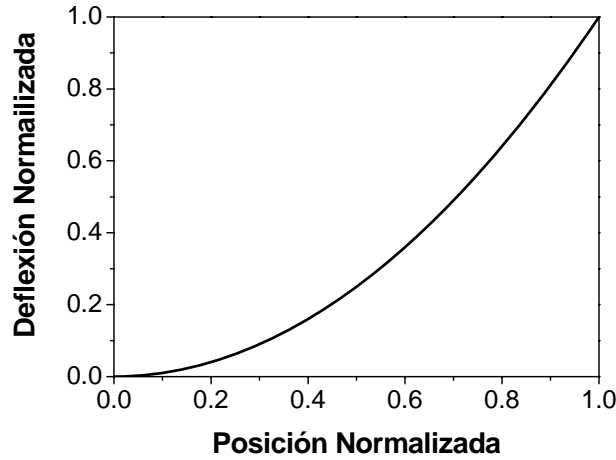


Figura D.3. Simulación teórica del perfil de una palanca de dimensiones normalizadas para $\sigma_0 = 1 \text{ N m}^{-1}$ utilizando el modelo de Stoney.

En la aproximación de pequeñas deflexiones podemos hacer un análisis lineal de la curvatura de la palanca, κ , aproximándola a la derivada segunda del perfil. Por lo tanto, a partir del modelo de Stoney tenemos que la curvatura de la palanca vendrá dado por la siguiente expresión

$$\kappa = \frac{1}{R} = \frac{M}{E * I} = \frac{6}{E * T^2} \sigma_0 \quad (\text{D.4})$$

Para un caso general en el que la tensión no está concentrada sólo en la cara superior de la palanca sino que existe una tensión diferencial, no tenemos más que sustituir σ_0 por la diferencia entre la tensión de las dos caras $\sigma_0 = \sigma_{\text{Sup}} - \sigma_{\text{Inf}}$ sin pérdida de generalidad en la aproximación lineal. Tal y como se puede apreciar en la ecuación D.4, el modelo de Stoney predice una curvatura constante de la palanca a lo largo de toda su longitud. Esto es obvio ya que es consecuencia directa de la sustitución de la tensión diferencial por un momento concentrado en el extremo libre de la palanca. La curvatura de la palanca mostrada en la figura D.3 se muestra en la figura D.4. La bajada de la curvatura en los dos extremos de la palanca no es más que un efecto de borde del cálculo numérico

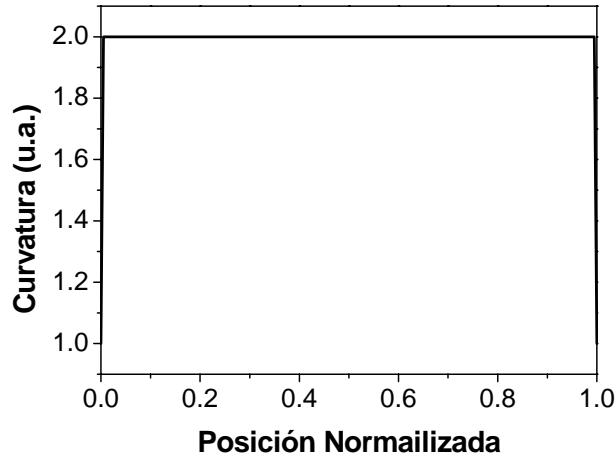


Figura D.4. Curvatura de la palanca a partir del modelo de Stoney. La curvatura es constante a lo largo de toda la palanca.

D.3. MODELOS DE TENSIÓN SUPERFICIAL: CARGA AXIAL

En el Apéndice C ya utilizamos el modelo correspondiente a la carga axial para describir el cambio de perfil de una palanca compuesta por dos materiales diferentes cuando cambia la temperatura exterior, pero ahora vamos a analizarlo de manera más detallada. La figura D.5 muestra un esquema de las fuerzas que intervienen en la palanca en este modelo. Nótese la presencia de una fuerza P que actúa en el extremo libre de la palanca, junto con el correspondiente momento de curvatura de la misma. Existe una fuerza de igual signo y dirección pero sentido contrario que actúa en el extremo fijo de la palanca para mantener el equilibrio en la misma.

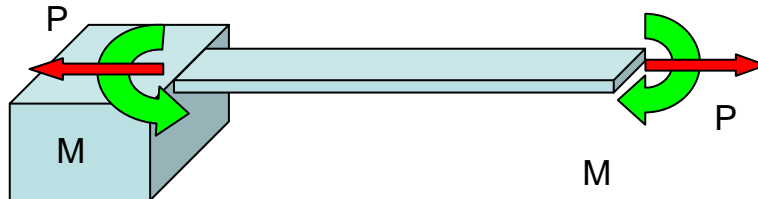


Figura D.5. Esquema de fuerzas que actúan sobre la palanca en equilibrio en el modelo de la carga axial

De nuevo el momento está definido como $M = \sigma_0 WT/2$, y la carga axial P será igual a $P = \sigma_0 W$. Por convenio en la literatura normalmente se dice que la palanca está tensionada si P es positivo. La derivación de la ecuación de movimiento se hizo para un caso general en el Capítulo 1, en este caso vamos a suponer que no existe ninguna otra fuerza en la palanca, con lo que tenemos que

$$E * I \frac{d^4 z}{dx^4} - P \frac{d^2 z}{dx^2} = 0 \quad (D.5)$$

Con las siguientes condiciones de contorno [13]

$$z(0) = \frac{dz}{dx}(0) = 0 \quad (D.6)$$

$$E * I \frac{d^2 z}{dx^2}(L) = M \quad (D.7)$$

$$E * I \frac{d^3 z}{dx^3}(L) = P \frac{dz}{dx}(L) \quad (D.8)$$

Con el fin de simplificar la solución del problema vamos a escribir esta ecuación y sus correspondientes condiciones de contorno en términos adimensionales, utilizando como variables $\xi = x / L$ y $Z = z / L$, de tal forma que la ecuación D.5 queda de la siguiente manera

$$Z^{(4)} - (\beta L)^2 Z^{(2)} = 0 \quad (D.9)$$

Y las condiciones de contorno

$$Z(0) = Z^{(1)}(0) \quad (D.10)$$

$$Z^{(2)}(1) = \frac{\alpha(\beta L)^2}{2} \quad (D.11)$$

$$Z^{(3)}(1) = (\beta L)^2 Z^{(1)}(1) \quad (D.12)$$

donde las derivadas son en función de ξ , $\beta = P / E * I$ y $\alpha = T / L$. La ecuación D.9 no tiene en cuenta efectos de cizalla en la palanca, por lo que sólo será válida en el límite de α pequeños, es decir, palancas cuyo espesor es mucho más pequeño que su longitud.

La ecuación D.9 con las condiciones de contorno D.10 – D.12 se puede resolver de manera analítica, con lo que el perfil de la palanca quedará de la siguiente manera

$$Z = \frac{\alpha}{2 \cosh(\beta L)} [\cosh(\beta L \xi) - 1] \quad (D.13)$$

La figura D.6 muestra el perfil de una palanca cuyas dimensiones han sido normalizadas para una tensión igual a $\sigma_0 = 1 \text{ N m}^{-1}$. Comparando esta figura con la figura D.3 vemos que el efecto de la carga axial es aplanar el perfil de la palanca.

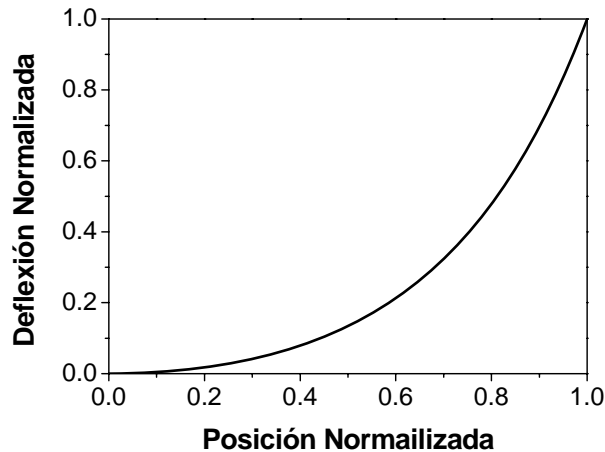


Figura D.6. Simulación teórica del perfil de la palanca utilizando el modelo de carga axial para una tensión de $\sigma_0 = 1 \text{ N m}^{-1}$.

A partir del perfil la curvatura de la palanca se calculará como en el caso anterior, extrayendo la segunda derivada,

$$K = Z^{(2)} = \frac{\alpha(\beta L)^2}{2 \cosh(\beta L)} \cosh(\beta L \xi) \quad (D.14)$$

El efecto de la carga axial no sólo es apreciable en el perfil de la palanca, ecuación D.13 y figura D.6, sino que también modifica la curvatura de la palanca, ecuación D.14, que deja de ser uniforme a lo largo de su longitud, tal y como puede verse en la figura D.7.

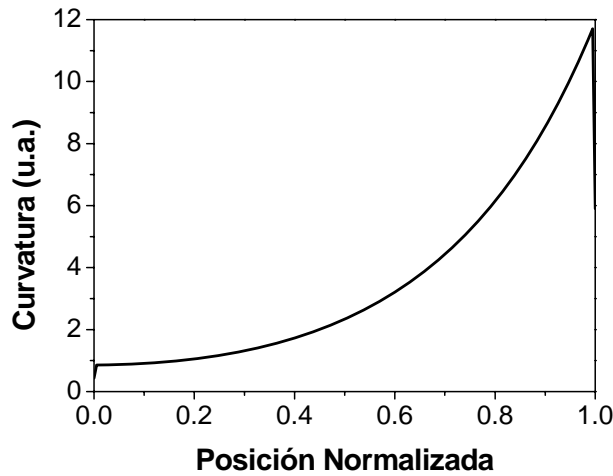


Figura D.7. Simulación teórica de la curvatura de la palanca obtenida a partir del modelo de carga axial.

D.4. MODELOS DE Tensión SUPERFICIAL: DISTRIBUCIÓN UNIFORME DE MOMENTOS

Por último vamos a proponer un modelo en el que una tensión superficial está distribuido de manera uniforme en la cara superior de la palanca, s . Las unidades de s son pascuales. Simulamos por tanto el efecto de una distribución uniforme de tensión axial a lo largo del eje neutro de la palanca, sW , unido a la distribución de un momento de curvatura uniforme a lo largo de toda la palanca, m , que se define como $m = sWT / 2$, figura D.8.

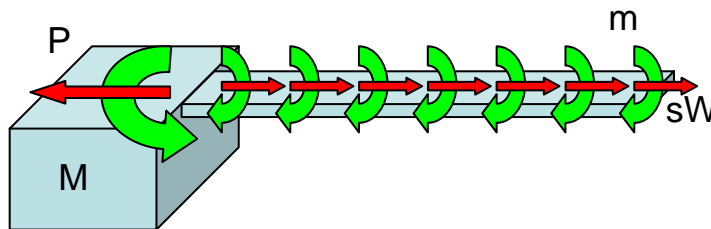


Figura D.8. Esquema de la distribución uniforme de momento y tensión axial a lo largo de la palanca.

La ecuación de movimiento de este modelo no es tan sencilla de obtener como en los otros dos casos. Constituye el caso más general de la expresión 1.12 deducida en la Capítulo 1. Se calcula utilizando el principio del trabajo virtual. Como ya vimos en el método de Rayleigh, la energía elástica de la palanca viene dada por

$$W_s = \frac{1}{2} \int_0^L E * I \left(\frac{d^2 z}{dx^2} \right)^2 dx \quad (D.15)$$

El trabajo externo realizado por la distribución uniforme de momentos m y el tensión axial sW es

$$W_{ext} = \int_0^L m(L-x) \frac{d^2 z}{dx^2} dx - \int_0^L \frac{1}{2} sW(L-x) \left(\frac{dz}{dx} \right)^2 dx \quad (D.16)$$

Aplicando el principio de los trabajos virtuales tenemos que $\delta(W_s - W_{ext}) = 0$, por lo tanto la ecuación de movimiento será

$$E * I \frac{d^4 z}{dx^4} - sW(L-x) \frac{d^2 z}{dx^2} + sW \frac{dz}{dx} = 0 \quad (D.17)$$

y sus correspondientes condiciones de contorno

$$z(0) = \frac{dz}{dx}(0) = 0 \quad (D.18)$$

$$\frac{d^2 z}{dx^2}(L) = 0 \quad (D.19)$$

$$E * I \frac{d^3 z}{dx^3}(L) + m = 0 \quad (D.20)$$

Tal y como se puede ver, estas condiciones de contorno son ligeramente diferentes a las condiciones D.6 – D.8. Algunos autores [11] introducen una deformación que proviene del desajuste entre los parámetros de red de las diferentes capas que forman la palanca, variando la energía potencial D.15. Físicamente esto es equivalente a añadir una distribución uniforme de carga axial sW y un momento de curvatura en el sistema, que es lo que hemos hecho en este modelo. Podríamos decir que es la aproximación más precisa de cuantas vamos a comentar en este trabajo.

De nuevo vamos a proporcionar una expresiones adimensionales de la ecuación de movimiento y de las condiciones de contorno que serán más prácticas a la hora de trabajar con ellas,

$$Z^{(4)} - (\beta L)^2 (1 - \xi) Z^{(2)} + (\beta L)^2 = 0 \quad (D.21)$$

Con sus correspondientes condiciones de contorno

$$Z(0) = Z^{(1)}(0) \quad (D.22)$$

$$Z^{(2)}(1) = 0 \quad (D.23)$$

$$Z^{(3)}(1) + \frac{\alpha(\beta L)^2}{2} = 0 \quad (D.24)$$

La ecuación D.21 con las condiciones de contorno D.22 – D.24 no es analíticamente resoluble, con lo que tenemos que recurrir a una solución numérica de la ecuación. La gráfica D.9 muestra el perfil obtenido mediante este cálculo numérico de nuevo para una palanca adimensional sobre la que hemos ejercido una tensión de $\sigma_0 = 1 \text{ N m}^{-1}$.

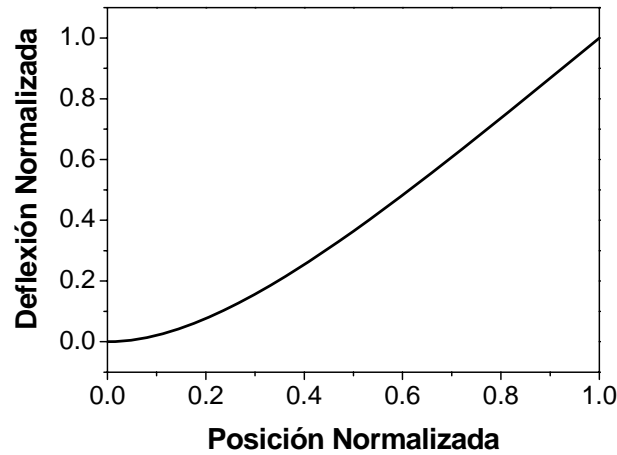


Figura D.9. Simulación teórica del perfil de la palanca correspondiente a la solución numérica del modelo de distribución de carga y momento uniforme.

Tal y como se puede ver en la figura D.9, el perfil de la palanca así obtenido dista mucho de ser parabólico como en el caso del modelo de Stoney. La figura D.10 muestra la derivada segunda obtenida de forma numérica de este perfil. En ella se puede ver que la curvatura decrece a lo largo de la palanca hasta hacerse cero cerca del extremo libre.

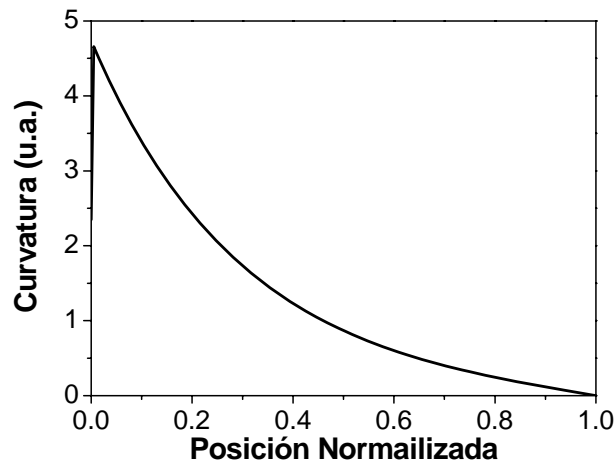


Figura D.10. Simulación teórica de la curvatura de la palanca correspondiente a la solución numérica del modelo de distribución de carga y momento uniforme.

Gracias a la normalización de los perfiles que hemos hecho en cada una de las simulaciones teóricas podemos ahora comparar los tres modelos estudiados. En la gráfica D.11 mostramos el perfil normalizado de una palanca utilizando el modelo de Stoney (curva negra), el modelo de la carga axial (curva roja) y el modelo de la distribución uniforme de tensión axial y momento a lo largo de la palanca (curva verde). En esta gráfica podemos ver cómo el modelo de Stoney es el único que presenta un perfil parabólico de la palanca, siendo los otros dos mucho más planos.

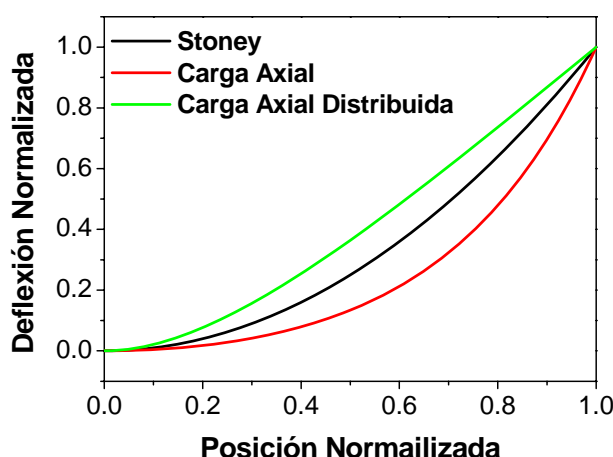


Figura D.11. Comparación de los perfiles teóricos obtenidos a partir de los tres modelos teóricos estudiados: Modelo de Stoney (curva negra), modelo de carga axial (curva roja) y distribución uniforme de momento de curvatura y tensión axial (curva verde).

D.5. DEFLEXIONES ANÓMALAS DE LA PALANCA

Tal y como hemos visto en el Apéndice C, no es necesario recurrir al tercer modelo propuesto para hacer una descripción precisa de la palanca, ya que con el modelo de la carga axial disponemos de una solución sencilla que permite explicar diversos resultados experimentales.

Gracias al desarrollo de la técnica de perfilometría que hemos descrito en la sección 3.5.1 de la Introducción, podemos ver la deflexión real de la palanca y compararla con los diversos modelos, tal y como hicimos en el caso del efecto de la temperatura externa en el Apéndice C. Uno de los resultados más llamativos es el que obtenemos cuando la palanca se somete a una tensión compresiva. Esto nos lleva a observar diferentes dobleces en la palanca, que se comba porque no puede deformarse a través del extremo libre como sucede en el caso de una tensión.

En la figura D.12 vemos la medida experimental del perfil de una palanca comercial de silicio (Mikromasch) de 400 μ m de largo, 100 μ m de ancho y 1 μ m de espesor. La medida está tomada antes, cuadrados negros, y después metalizar 20nm de oro por evaporación térmica. El máximo que se observa en la palanca es una

consecuencia directa de las tensiones generadas en el proceso de la deposición. Experimentalmente podemos controlar estas tensiones variando la velocidad de deposición del metal sobre el silicio [14].

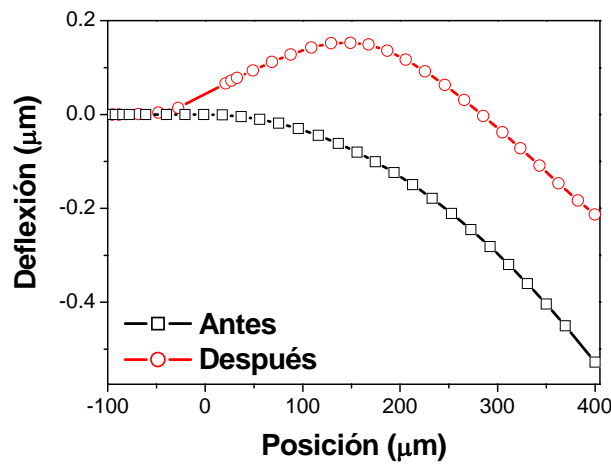


Figura D.13. Medida experimental del cambio en el perfil de una palanca de 400μm de largo al depositar una fina capa de oro (20nm).

Podemos reproducir este mismo comportamiento a partir de la ecuación D.13, cambiando el signo a la carga axial. De este modo en la figura D.13 vemos diferentes perfiles diferenciales, es decir, la diferencia entre el perfil después de someter a la palanca a la tensión con la palanca sin tensión, para distintos valores de σ_0 . Cuando la tensión es cero, el cambio en el perfil es obviamente cero. Para una tensión de $\sigma_0 = 1 \text{ N m}^{-1}$ tenemos que la palanca se dobla hacia arriba, tal y como mostramos en la figura D.6. Sin embargo, para $\sigma_0 = -2 \text{ N m}^{-1}$ vemos que empiezan a aparecer dobleces.

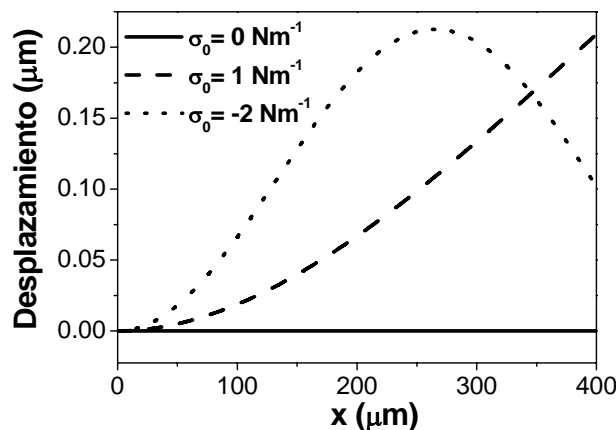


Figura D.13. Efecto del signo de la tensión sobre el cambio en el perfil de la palanca. Vemos que para una tensión negativa la palanca se dobla hacia el extremo fijo, produciendo un máximo en el centro de la misma.

Tradicionalmente, las medidas sólo se fijan en la posición del extremo libre. Esto deja abierta la posibilidad a que perdamos información acerca del signo y la

magnitud de la tensión que actúa sobre la palanca. De hecho, si extrajéramos el cambio de tensión superficial a partir de la deflexión del extremo libre, tendríamos un error cercano al 200%. En la figura D.14 se muestra cómo varía la posición del extremo libre en función de la tensión aplicando la ecuación D.13

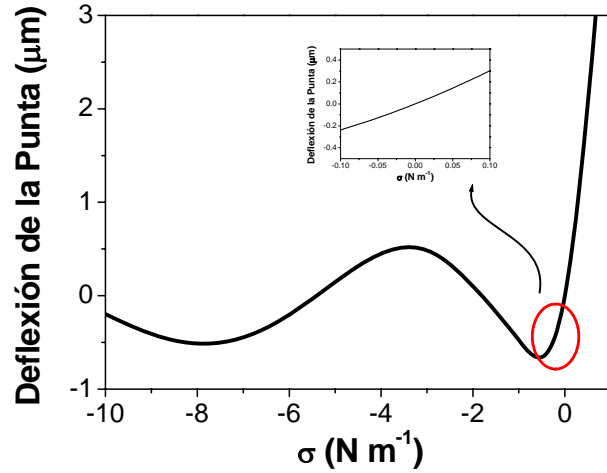


Figura D.14. Variación de la posición del extremo libre en función de la tensión aplicada a la palanca. En la ampliación vemos que el comportamiento lineal queda restringido a pequeños valores de la tensión.

En la figura D.14 vemos que el comportamiento de la deflexión del extremo libre no es lineal con la tensión. De hecho ni siquiera es simétrico. Únicamente podemos hacer una aproximación lineal para valores de la tensión entorno a cero, ampliación en la figura D.14, conclusión a la que ya llegamos en el Apéndice C.

D.6. MEDIDAS DINÁMICAS

El siguiente punto de este desarrollo es buscar la conexión entre el modelo de tensión con fuerza axial y la frecuencia de resonancia. Numerosos autores han trabajado en la relación entre la tensión generada sobre la palanca y la frecuencia de resonancia [15 – 19], y el propósito del presente Apéndice no es tratar de esclarecer el problema. Únicamente vamos a ver cuál sería el efecto de una fuerza axial en la palanca, sin entrar en detalles acerca de su origen o existencia [15, 19].

A partir del segundo modelo descrito en la sección precedente, y utilizando la ecuación de movimiento descrita en la sección 2.4 del Capítulo 1, tenemos que la frecuencia de resonancia sería igual a [18]

$$\omega = \frac{1}{\sqrt{3}} \left[1 + \frac{2\sigma L^3}{EI\pi^2} \right]^{1/2} \left(\frac{k_n^F}{L} \right) \sqrt{\frac{EI}{\rho WT}}$$

Resolviendo la parte espacial de la ecuación 1.14 podemos extraer la forma que adoptan los diferentes modos flexurales de vibración. En la figura D.15 podemos ver los tres primeros modos flexurales de vibración antes (curva continua) y después de haber

inducido una fuerza en el eje neutro de la palanca (curva discontinua). La magnitud de dicha fuerza está expresada en función de β , que en este caso será igual a 1.

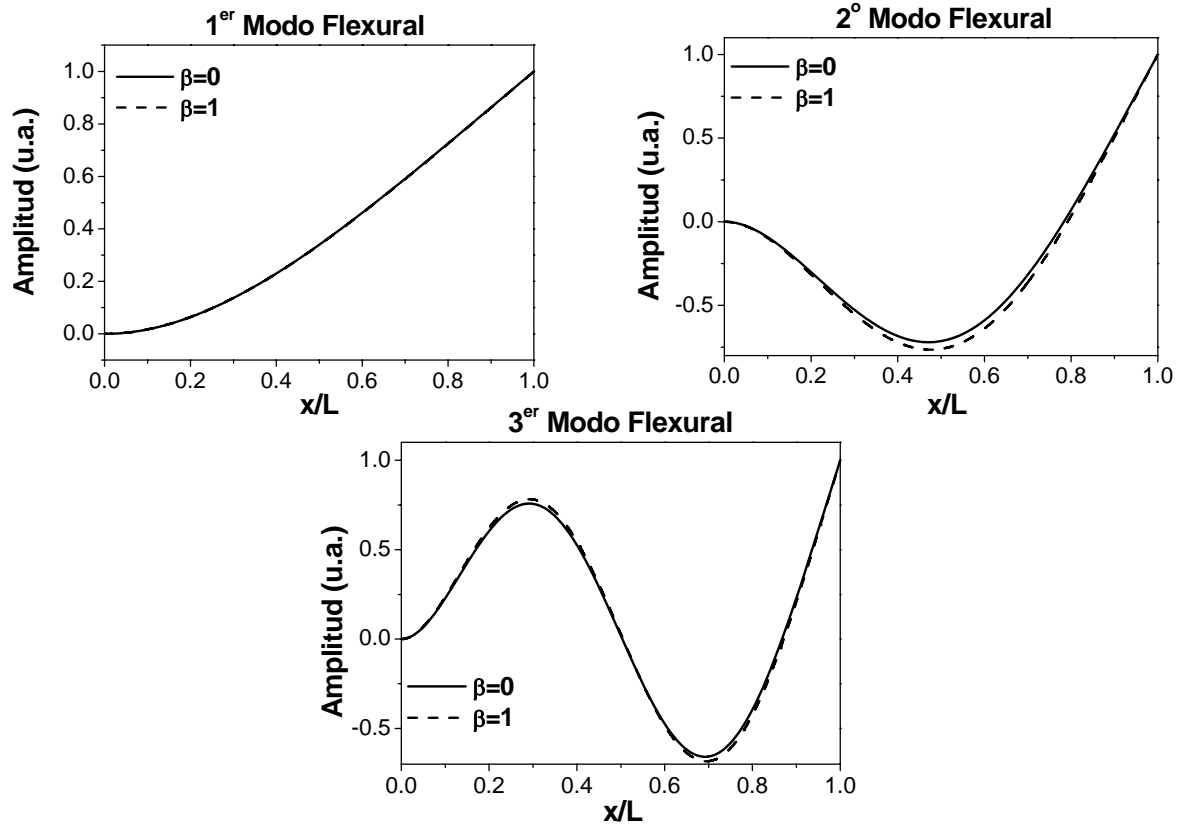


Figura D.15. Variación de la forma de los tres primeros modos flexurales de vibración con la carga axial.

En la figura D.15 la amplitud de los modos de vibración aparece normalizada para facilitar la comparación. Mientras que el primer modo apenas se ve afectado por la tensión, los máximos del segundo y tercer modo sí que sufren una pequeña variación.

REFERENCIAS

1. G. G. Stoney "The tension of metallic films deposited by electrolysis" *Proc. R. Soc. London Ser. A* **82**, 172 (1909).
2. R. R. A. Syms, E. M. Yeatman, V. M. Bright, G. M. Whitesides "Surface tension-powered self-assembly of microstructures - the state-of-the-art" *J. Microelectromech. Syst.* **12**, 387 (2003).
3. Y. – P. Zhao, L. S. Wang, T. X. Yu "Mechanics of adhesion in MEMS—a review" *J. Adhesion Sci. Technol.* **17**, 519 (2003).
4. J. Fritz, M. K. Baller, H. P. Lang, T. Strunz, E. Meyer, H.-J. Güntherodt, E. Delamarche, Ch. Gerber, and J. K. Gimzewski "Stress at the Solid-Liquid Interface of Self-Assembled Monolayers on Gold Investigated with a Nanomechanical Sensor" *Langmuir* **16**, 9694 (2000).
5. J. Fritz, M. K. Baller, H. P. Lang, H. Rothuizen, P. Vettiger, E. Meyer, H. -J. Güntherodt, Ch. Gerber, and J. K. Gimzewski "Translating Biomolecular Recognition into Nanomechanics" *Science* **288**, 316 (2000).
6. J. E. Sader "Surface stress induced deflections of cantilever plates with applications to the atomic force microscope: Rectangular plates" *J. Appl. Phys.* **89**, 2911 (2001).
7. M. Godin, V. Tabard-Cossa, P. Grütter, P. Williams "Quantitative surface stress measurements using a microcantilever" *Appl. Phys. Lett.* **79**, 551 (2001).
8. Y. Zhang, Y. – P. Zhao "Applicability range of Stoney's formula and modified formulas for a film/substrate bilayer" *J. Appl. Phys.* **99**, 053513 (2006).
9. Ch. – H. Hsueh "Modeling of elastic deformation of multilayers due to residual stresses and external bending" *J. Appl. Phys.* **91**, 9652 (2002).
10. C. A. Klein "How accurate are Stoney's equation and recent modifications" *J. Appl. Phys.* **88**, 5487 (2000).
11. L. B. Freund, J. A. Floro, E. Chason "Extensions of the Stoney formula for substrate curvature to configurations with thin substrates or large deformations" *Appl. Phys. Lett.* **74**, 1987 (1999).
12. R. J. Jaccodine, W. A. Schlegel "Measurement of Strains at Si-SiO₂ Interface" *J. Appl. Phys.* **37**, 2429 (1966).
13. Y. Yang, Q. Ren, Y. – P. Zhao "Modelling analysis of surface stress on a rectangular cantilever beam" *J. Phys. D: Appl. Phys.* **37**, 2140 (2004).
14. J. Mertens, M. Calleja, D. Ramos, J. Tamayo "Role of the gold film nanostructure on the nanomechanical response of microcantilever sensors" *J. Appl. Phys.* **101**, 034904 (2007)
15. M. J. Lachut, J. E. Sader "Effect of Surface Stress on the Stiffness of Cantilever Plates" *Phys. Rev. Lett.* **99**, 206102 (2007).
16. G. – Y. Huang, W. Gao, S. – W. Yu "Model for the adsorption – induced change in resonance frequency of a cantilever" *Appl. Phys. Lett.* **89**, 043506 (2006).
17. M. E. Gurtin, X. Markenscoff, R. N. Thurston "Effect of surface stress on the natural frequency of thin crystals" *Appl. Phys. Lett.* **29**, 529 (1976).
18. A. W. McFarland, M. A. Poggi, M. J. Doyle, L. A. Bottomley, J. S. Colton "Influence of the surface stress on the resonance behaviour of microcantilevers" *Appl. Phys. Lett.* **87**, 053505 (2005).
19. P. Lu, H. P. Lee, C. Lu, S. J. O'Shea "Surface stress effects on the resonance properties of cantilever sensors" *Phys. Rev. B* **72**, 085405 (2005).

EPÍLOGO

En esta última sección de la presente tesis doctoral se recogen las conclusiones generales del trabajo llevado a cabo durante los últimos años en el campo de los sensores nanomecánicos. Es en este momento cuando cabe preguntarse en qué medida ha influido el trabajo en el campo de investigación, en que puntos se ha mejorado la situación que se encontró al comienzo de la tesis. Podemos resumirlos brevemente en tres aspectos fundamentales: el desarrollo e implementación de un método de excitación en líquido, la reducción del ruido en la determinación de la frecuencia de resonancia mejorando la resolución alcanzada en la literatura hasta tres órdenes de magnitud y la elaboración y comprobación de un modelo teórico acerca del origen de la respuesta de los resonadores ante la adsorción de una capa biológica sobre su superficie.

1. CONCLUSIONES GENERALES

Pese a que en cada capítulo quedan recogidas las conclusiones más importantes referentes a cada tema en particular, en este epílogo se procede a dar una visión general de la tesis en su conjunto. El objetivo principal de la presente tesis doctoral es el desarrollo de un sensor basado en resonadores nanomecánicos. Lo primero que debe tenerse en cuenta a la hora de diseñar un sensor es fijar la variable que queremos detectar, en nuestro caso particular la adhesión sobre la superficie de la palanca de moléculas de origen biológico. Esto fija las posibles alternativas a la hora de proceder a su diseño. Tal y como se explicó en el prólogo, la tesis se encuentra dividida en dos partes diferenciadas precedidas de una introducción. Cada parte constituye una forma diferente de abordar el problema de aumentar la sensibilidad y reproducibilidad de las medidas.

Por un lado tenemos las medidas en tiempo real de la adsorción de moléculas sobre la superficie. Obviamente, la adsorción tiene lugar en un medio líquido, generalmente agua o suero salino. A este respecto se han estudiado en primer lugar los efectos sobre el comportamiento dinámico de la micropalanca que tiene su inmersión en un líquido, que se pueden resumir en dos aspectos fundamentalmente: existe una masa añadida que hace disminuir la frecuencia de resonancia y además existe una fuente añadida de disipación de energía, lo que hace que baje el factor de calidad. Esto unido a la disminución de la amplitud de la oscilación de la micropalanca hace que sea necesario el uso de métodos de excitación. Los experimentos comenzaron utilizando los métodos reportados en la literatura: excitación mecano-acústica, mediante la colocación de una cerámica piezoeléctrica en la celda de fluidos; y magnética, recubriendo la micropalanca con un material ferromagnético y colocándola en un campo magnético alterno. Sin embargo, las dificultades inherentes a ambos métodos de excitación nos condujeron al desarrollo, tanto teórico como experimental, de la excitación fototérmica. Esta técnica se vale de la capa metálica que se suele encontrar de forma comercial en las micropalancas utilizadas para microscopía de fuerzas atómicas y que sirve para incrementar la reflectividad de las mismas. Mediante un láser pulsado la palanca se calienta periódicamente. Como los dos materiales de los que está compuesta tienen diferentes índices de expansión térmica el aumento de temperatura conlleva la aplicación de un momento de curvatura, doblando la palanca. Tal y como se puede ver en el Capítulo 3 este método de excitación resulta apropiado para la excitación de micropalancas en líquidos por varios motivos: el principal es que no excita resonancias espurias provenientes de la celda o el fluido resonando dentro de la misma; además, el hecho de que sea una fuente puntual de excitación (depende del tamaño final del spot del haz láser modulado) hace que sea posible excitar modos superiores de vibración de forma selectiva, ya que se demuestra que a lo largo de la palanca existen zonas óptimas de excitación dependientes del índice del modo.

El otro gran problema que presentan las medidas de las micropalancas inmersas en líquidos es la resolución en la medida de la frecuencia de resonancia. Este es un tema recurrente a lo largo de la tesis. En el Capítulo 2 el ruido en frecuencia aparece por primera vez de un modo general, que se concreta en el Capítulo 4 particularizando el estudio a las condiciones de nuestras medidas en líquidos. Vemos cómo la amplitud de la oscilación juega un papel fundamental en las fluctuaciones inherentes a la frecuencia de resonancia. Comparamos el ruido de la frecuencia de resonancia de la misma palanca excitada por tres procedimientos diferentes: mediante fuerzas térmicas o de Langevin, es decir, el movimiento Browniano de la palanca; utilizando la técnica de la modulación

de frecuencia a partir de la excitación basada en el efecto fototérmico descrito anteriormente; y aplicando una realimentación del ruido termomecánico mediante un lazo cerrado a través, de nuevo, de la excitación fototérmica. Esta realimentación requiere un acondicionamiento previo de la señal proveniente del ruido termomecánico que se inyecta en el láser modulado: necesitamos amplificar la señal utilizando un amplificador y retardarla $\pi/2$ mediante un desfaseador. Las medidas de la fluctuación de la frecuencia de resonancia son concluyentes: la estabilidad mejora un factor 5 utilizando la modulación en frecuencia a partir del efecto fototérmico comparada con la medida del movimiento Browniano y 3 órdenes de magnitud cuando cerramos el lazo de realimentación. Este último dato supone una medida sin precedentes en la literatura, mejorando hasta en tres órdenes de magnitud la sensibilidad de las mejores medidas dinámicas en líquidos publicadas hasta la fecha.

La otra gran apuesta por mejorar la sensibilidad de las medidas con sensores nanomecánicos consiste en mejorar las aplicaciones *ex situ*, esto es, midiendo la frecuencia de resonancia antes y después de la deposición de las entidades biológicas (patógenos o moléculas) que queramos detectar. En este caso no tratamos de ganar la carrera por la máxima sensibilidad en las medidas utilizando resonadores nanomecánicos, ya que existen numerosos estudios previos que persiguen este hito. Nos centramos, por tanto, en la interpretación de los resultados, un campo todavía no resuelto completamente. Los esfuerzos en el campo de la detección *ex situ* están dedicados normalmente al aumento de la sensibilidad reduciendo el tamaño de los resonadores o cambiando la configuración de los mismos. De este modo se ha llegado hasta el zeptogramo (10^{-21} g) utilizando resonadores basados en nanotubos de carbono. Sin embargo, este tipo de estrategias no son adecuadas para sensores biológicos. El motivo principal es que cuando el tamaño del resonador se aproxima al adsorbato que pretendemos detectar la frecuencia de resonancia varía de una forma que no se puede explicar con las aproximaciones teóricas que utilizan este tipo de sensores de masa, donde el espesor de la capa adsorbida es prácticamente despreciable comparado con el espesor de la palanca.

Por tanto, cuando nos propusimos la detección de patógenos (bacterias), cuyo espesor es de aproximadamente $1\mu\text{m}$, utilizando micropalancas nos vimos en la necesidad de desarrollar un modelo teórico que explicara nuestros resultados (Capítulo 5). Este modelo tiene en cuenta el cambio en la rigidez efectiva de la palanca que supone la adhesión de una capa sobre ella. A partir de este modelo podemos explicar cambios en la frecuencia de resonancia tanto positivos como negativos. De hecho, es posible pasar de un desplazamiento negativo en la frecuencia de resonancia a un desplazamiento positivo simplemente añadiendo más material, en clara oposición a los modelos previos.

Una vez que se ha comprendido el mecanismo que afecta a la frecuencia de resonancia de la palanca, el paso natural es reducir el tamaño del resonador para aumentar la sensibilidad, pasando de la detección de patógenos a moléculas orgánicas (Capítulo 6). A partir del modelo teórico previo se desprenden las zonas a lo largo de la palanca más sensibles a los posibles cambios en las propiedades de la palanca, masa añadida o rigidez efectiva. Estas zonas, para el modo fundamental de oscilación, se corresponden con ambos extremos: el extremo libre, sensible a la masa añadida; y el extremo fijo, sensible a los cambios en las propiedades mecánicas de la palanca. En la fabricación de los nuevos resonadores diseñados para la detección de moléculas biológicas localizamos dos áreas cubiertas de oro sobre estos extremos. Las moléculas orgánicas que queremos detectar presentan un grupo tiol en uno de sus extremos, de tal

modo que sólo se enlazan en la zona cubierta de oro, con lo que logramos desacoplar la respuesta proveniente del cambio de ambos parámetros (una positiva y otra negativa). A partir de este tipo de experimentos se llega a tener una comprensión más profunda de los orígenes del cambio en la frecuencia de resonancia debidos a la adsorción de moléculas orgánicas.

2. PERSPECTIVAS FUTURAS

El trabajo de investigación llevado a cabo en los últimos años y que ha dado como resultado la elaboración de la presente tesis doctoral ha intentado dar respuesta a las necesidades del campo de los sensores biológicos basados en resonadores nanomecánicos. No obstante, a pesar de responder numerosos interrogantes acerca del origen de la respuesta del resonador han surgido otros muchos que necesitan ser explorados en los próximos años. Hemos establecido que la frecuencia de resonancia es sensible únicamente al cambio de dos magnitudes, la masa del resonador y sus propiedades mecánicas (que se pueden agrupar todas ellas en una constante elástica efectiva). Cualquier otro tipo de interacción, por ejemplo la tensión superficial diferencial generada entre las dos caras de la palanca, se puede agrupar dentro de las propiedades mecánicas de la estructura.

Dentro del trabajo de investigación se ha establecido el efecto del módulo de Young de la capa adsorbida sobre la palanca. Sin embargo, todavía queda por esclarecer el origen del módulo de Young de una capa de moléculas biológicas. Debe tenerse en cuenta que las capas biológicas están compuestas por moléculas individuales, luego, a todos los efectos, podemos considerar la capa como discontinua. Por tanto, falta por establecer la relación entre el potencial de interacción entre las cadenas orgánicas y el módulo de Young del material en volumen.

Una vez se tengan todos los elementos necesarios el paso lógico es unir en un solo experimento las medidas en tiempo real junto con las matrices de resonadores diseñados para la adsorción selectiva en función de la posición. Esto requiere la unión de diversos elementos experimentales como puede ser un método eficiente de excitación de este tipo de palancas en líquido y la presencia de un lazo cerrado de realimentación para mejorar el ruido de la medida. Combinando ambas técnicas es de esperar la obtención de una medida que aúne especificidad y sensibilidad en las medidas biológicas.

Listado de Publicaciones

1. D. Ramos, J. Tamayo, J. Mertens, M. Calleja "Photothermal excitation of microcantilevers in liquids" *J. Appl. Phys.* **99**, 124904 (2006).
2. D. Ramos, J. Tamayo, J. Mertens, M. Calleja, A. Zaballos "Origin of the response of nanomechanical resonators to bacteria adsorption" *J. Appl. Phys.* **100**, 106105 (2006).
3. J. Tamayo, D. Ramos, J. Mertens, M. Calleja "Effect of the adsorbate stiffness on the resonance response of microcantilever sensors" *Appl. Phys. Lett.* **89**, 224104 (2006).
4. J. Mertens, M. Calleja, D. Ramos, J. Tamayo "Role of the gold film nanostructure on the nanomechanical response of microcantilever sensors" *J. Appl. Phys.* **101**, 034904 (2007).
5. D. Ramos, M. Calleja, J. Mertens, A. Zaballos, J. Tamayo "Measurement of the Mass and Rigidity of Adsorbates on a Microcantilever Sensor" *Sensors* **7**, 1834 (2007).
6. D. Ramos, J. Mertens, M. Calleja, J. Tamayo "Study of the origin of bending induced by bimetallic effect on microcantilever" *Sensors* **7**, 1757 (2007).
7. D. Ramos, J. Tamayo, J. Mertens, M. Calleja, L. G. Villanueva, A. Zaballos "Detection of bacteria based on the thermomechanical noise of a nanomechanical resonator: origin of the response and detection limits" *Nanotechnology* **19**, 035503 (2008).
8. J. Tamayo, M. Calleja, D. Ramos, J. Mertens "Underlying mechanisms of the self-sustained oscillation of a nanomechanical stochastic resonator in a liquid" *Phys. Rev. B* **76**, 180201 (2007).
9. D. Ramos, J. Mertens, M. Calleja, J. Tamayo "Photothermal self-excitation of nanomechanical resonators in liquids" *Appl. Phys. Lett.* **92**, 173108 (2008).
10. J. Mertens, C. Rogero, M. Calleja, D. Ramos, J. A. Martín-Gago, C. Briones, J. Tamayo "Label-free detection of DNA hybridization based on hydration-induced tension in nucleic acid films" *Nature Nanotechnology*. **3**, 301-307 (2008).
11. D. Ramos, M. Arroyo-Hernandez, E. Gil Santos, H. Duy Tong, C. van Rijn, M. Calleja, J. Tamayo "Arrays of dual nanomechanical resonators for selective biological detection" *Analytical Chemistry* (2009).

Patentes Derivadas del Trabajo de Investigación

1. J. Tamayo, J. Mertens, M. Calleja, D. Ramos, C. Rogero, J. A. Martín-Gago, C. Briones “Method and system for detection of a selected type of molecules in a sample” N° 1.2077.0423 Licenciada por el CSIC a MecWins S.L.